

**UM**

**UNIVERSIDAD DE MORÓN**  
**SECRETARÍA DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA**

**Armadillos y Zarigüeyas como Modelos  
Experimentales en la Investigación Biomédica:  
Contribuciones a la Generalización de su Uso.**

Trabajo presentado para optar al título de Doctor de la Universidad de Morón.

Autor: Médico Veterinario Omar Héctor Iodice.

Director: Doctor Jorge Mario Affanni.

Codirector: Doctor Claudio Osvaldo Cervino.

**Abril 2009.**

**Dedicado a:**

Delia y José, mis padres.

En recuerdo a sus incansables esfuerzos para que continuara estudiando, ya que ellos no pudieron hacerlo en su momento; época no tan lejana en que el saber, la instrucción y la educación eran premiados y permitían la movilidad social.

María Teresa, mi esposa.

Sin su infinito amor y paciencia no hubiera llegado hasta este punto de mi vida. Constantemente dispuesta a ofrecer su colaboración y su opinión, poniéndose siempre en el lugar del otro para comprenderlo y ayudarlo, brindando ternura y calidez a cada momento. Gracias por reconfortarme en cada desmayo y en cada caída, sobre todo durante la elaboración de esta Tesis.

Laura, Clara, Mariano y Joaquín, mis hijos.

Su apoyo fue incondicional a lo largo de este trabajo. Valoro la forma en que aceptaron resignar el uso de la computadora en etapas críticas de su elaboración. Supieron acompañarme en la preparación de esta Tesis, con comprensión y humor, repitiéndome todas las recomendaciones que yo les hice por años con sus tareas escolares.

## **Agradecimientos:**

Al Dr. Jorge Mario Affanni. Director, maestro y amigo.

Agradezco la confianza que depositó en mí al delegarme el cuidado veterinario de la Colonia de animales. Repitió su apoyo al encomendarme la tarea docente. Me permitió acompañarlo a él y a sus colaboradores en el camino de la investigación. Su inagotable fuente de ideas y sugerencias a lo largo de todos estos años me ha permitido elaborar hoy esta Tesis. Espero no haber defraudado su confianza.

Al Dr. Claudio Osvaldo Cervino. Alumno, colega, maestro y amigo.

Lo conocí como alumno desde mi función docente. Desde entonces no he dejado de admirar sus condiciones profesionales y humanas como estudiante y luego como docente. Sin su estímulo y apoyo permanente no hubiera ni siquiera asumido el compromiso de iniciar esta tarea. Su capacidad de trabajo y su colaboración inquebrantable me permitió avanzar y aprender en el proceso de confección de esta Tesis.

En memoria del Lic. Rubén Enrique Dezi. Colega, maestro y amigo.

Fuimos compañeros en la actividad docente. La profundidad y simpleza de sus apreciaciones fueron admirables. Su temprana muerte nos ha dejado un espacio imposible de ocupar con otros afectos. Siempre recordaremos sus reflexiones, sus enseñanzas y su buen humor. Aún me parece escuchar, desde los laboratorios, su inconfundible risa y sus “frases célebres”.

Agradezco a todos los colegas y profesionales de las más diversas áreas del quehacer académico y científico que me acompañaron durante todos estos años. Me ayudaron a crecer en lo profesional y por sobre todo en lo humano. Amigas y amigos que conservo entre mis afectos “a pesar” de la ciencia y la distancia. Sería largo nombrar a todos, pero entre ellos quisiera destacar a algunos que influyeron fuertemente en mí. Norberto Barassi, quien fue el primero en ponerme en contacto con el mundo de los Animales de Laboratorio. Mauricio Papini, gran amigo dentro y fuera de los laboratorios, fue tan ameno y constructivo trabajar con él, que era difícil establecer la diferencia entre las obligaciones laborales y el placer de realizarlas. Enrique Rodríguez, siempre escuchando y ofreciendo su ajustada opinión, con una envidiable rigurosidad profesional y capacidad de trabajo demostrada ya desde sus épocas de estudiante. Diego Golombek, brillante como estudiante y como profesional, gran compañero y amigo, compinche de varias aventuras científicas. Adela Rosenkranz, notable experta en Animales de Laboratorio, ha tenido actitudes muy generosas para conmigo que no olvidaré jamás, ha sido permanente su disposición para compartir su conocimiento. Isabel Benítez su sabiduría en neuroanatomía comparada y su paciencia para transmitirla fueron invaluableles a la hora de desarrollar muchos de los diseños quirúrgicos experimentales. Ricardo José Abello, gran compañero de ruta en estos últimos años, agradezco sus colaboraciones y su rigurosidad científica. Emma Casanave, a pesar que el tiempo y la distancia nos han separado, guardo con afecto su calidez y dedicación en las tareas compartidas.

Agradezco la invaluable colaboración de Sulma Prestes, Alberto Mairán y Juan Piniela quienes se encargaron del mantenimiento, cuidado y transporte de los animales de la Colonia.

Gracias a todos los familiares y amigos que me apoyaron y alentaron durante la elaboración de esta Tesis.

**A modo de prologo:**

*“Si tú tienes una manzana y yo tengo una manzana, y las intercambiamos, ambos seguiremos teniendo una manzana. Pero si tú tienes una idea y yo tengo una idea, e intercambiamos ideas, entonces ambos tendremos dos ideas”.*

**George Bernard Shaw (1856-1950).**  
Escritor irlandés.

Esta Tesis tiene el propósito de comunicar la experiencia, la información y los datos recogidos a lo largo de muchos años de trabajo en el mantenimiento y cuidado de Animales de Laboratorio No Tradicionales.

Remarco el carácter de recopilación de observaciones y experiencias aisladas, dado que quizás cada una de ellas, por separado, no amerite la publicación de un reporte.

Si embargo, juzgo que, aunadas conforman un cuerpo sólido y de utilidad al campo de las Ciencias del Animal de Laboratorio. Tal como sucede con las delgadas ramas de un árbol que, siendo frágiles en solitario, cuando son liadas a otras similares forman una estructura compacta que resalta y resiste en medio de su entorno.

Este trabajo no intenta ser un estudio completo y acabado de la forma de crianza y mantenimiento de estos grupos animales, todavía hay un largo camino por recorrer al respecto. Sin embargo, intenta establecer criterios de crianza, mantención y uso de modelos biológicos no tradicionales bajo las condiciones más adecuadas posibles y con el mayor respeto a su dignidad de seres vivos. Intenta, asimismo, aportar un enfoque zootécnico que sirva de base y de guía con el fin de ser aplicado a otros animales experimentales poco difundidos para ser utilizados éticamente en las más diversas áreas de la experimentación biomédica.

Dejo estas páginas a consideración de todos aquellos que deseen ponerlas en práctica.

*Omar Héctor Iodice*  
Bs. As., Argentina, 2009.

*Una vez en un hermoso bosque se produjo un terrible incendio. Al cabo de unas horas todo parecía perderse. Ya no quedaba donde los animales pudieran resguardarse del horror. El final era inminente. De repente, y como desencajado del cuadro un pequeño colibrí volaba hacia el río y recogía la poca agua que su diminuto pico le permitía, regresando hasta las llamas, intentaba sofocar el incendio. En uno de esos recorridos, un elefante que paralizado por el miedo no hacía otra cosa que contemplar a su pequeño compañero en su ininterrumpida labor, expreso:*

- *¡Oye! ¿Acaso te crees omnipotente o no te has dado cuenta de que nada se puede hacer?*
- *¡No lo lograras jamás!-*

*Solo un instante le tomo al colibrí responderle:*

- *No te confundas elefante. No creas que pienso remediar este desastre yo solo. No soy tan ingenuo. Pero si estoy seguro de que estoy haciendo la parte que me toca.*

**Fábula de amplia circulación oral en Centroamérica. Se publicó en varios libros pero su origen es incierto, quizás de autor anónimo.**

## **Índice general.**

<b>Dedicatoria.....</b>	<b>II</b>
<b>Agradecimientos.....</b>	<b>III</b>
<b>A modo de prólogo.....</b>	<b>IV</b>
<b>Índice general.....</b>	<b>V</b>
<b>Resumen/Abstract.....</b>	<b>1</b>
<b>★ Capítulo 1: Introducción general.</b>	
1. 1. Introducción general.....	3
1. 2. ¿Qué es un Animal de Laboratorio?.....	5
1. 3. Armadillos: Presentación del grupo como modelo para estudio.....	7
1. 4. Zarigüeyas: Presentación del grupo como modelo para estudio.....	8
1. 5. Objetivos de la Tesis.....	9
1. 6. Hipótesis.....	10
<b>★ Capítulo 2: Importancia de Armadillos y Zarigüeyas en la investigación biomédica.</b>	
2. 1. Introducción.....	11
2. 2. Armadillos: Descripción de las características más relevantes que los convierten en modelos experimentales.....	12
2. 3. Zarigüeyas: Descripción de las características más relevantes que los convierten en modelos experimentales.....	20
2. 4. Consideraciones Finales del Capítulo.....	27
<b>★ Capítulo 3: Origen y distribución de Armadillos y Zarigüeyas.</b>	
3. 1. Introducción.....	28
3. 2. Armadillos: paleontología, distribución mundial y taxonomía.....	30
3. 3. Zarigüeyas: paleontología, distribución mundial y taxonomía.....	37
3. 4. Consideraciones Finales del Capítulo .....	43
<b>★ Capítulo 4: Características generales de Armadillos y Zarigüeyas.</b>	
4. 1. Introducción.....	44
4. 2. Armadillos: Características anatómicas, fisiológicas, ecológicas, comportamentales, hábitos sociales y de forrajeo.....	45
4. 3. Zarigüeyas: Características anatómicas, fisiológicas, ecológicas,	

comportamentales, hábitos sociales y de forrajeo.....	52
<b>★ Capítulo 5: Condiciones de alojamiento para Armadillos y Zarigüeyas.</b>	
5. 1. Introducción.....	58
5. 1. 1. ¿Qué se entiende por ambiente?.....	58
5. 1. 2. ¿A qué llamamos bienestar animal?.....	59
5. 1. 3. ¿A qué llamamos enriquecimiento ambiental?.....	60
5. 2. Armadillos.....	62
5. 2. 1. Instalaciones propuestas para la cría de Armadillos en condiciones de Bioterio.....	63
5. 2. 2. Resultados y consideraciones finales de esta sección.....	74
5. 3. Zarigüeyas.....	78
5. 3. 1. Instalaciones propuestas para la cría de Zarigüeyas en condiciones de Bioterio.....	79
5. 3. 2. Resultados y consideraciones finales de esta sección.....	89
<b>★ Capítulo 6: Estudios sobre aspectos reproductivos en condiciones de bioterio.</b>	
6. 1. Introducción.....	94
6. 2. Armadillos.....	95
6. 2. 1. Procedimientos para obtener reproducción en condiciones de laboratorio.....	97
6. 2. 2. Consideraciones finales de esta sección.....	102
6. 3. Zarigüeyas.....	104
6. 3. 1. Procedimientos para obtener reproducción en condiciones de laboratorio.....	106
6. 3. 2. Consideraciones finales.....	121
<b>★ Capítulo 7: Estudios de crecimiento en condiciones de bioterio.</b>	
7. 1. Introducción.....	128
7. 2. Armadillos.....	133
7. 2. 1. Crecimiento de <i>Chaetophractus villosus</i> en condiciones de bioterio.....	133
7. 2. 2. Consideraciones finales de esta sección.....	138
7. 3. Zarigüeyas.....	141

7. 3. 1.	Crecimiento de <i>Lutreolina crassicaudata</i> en condiciones de bioterio.....	147
7. 3. 2.	Consideraciones finales.....	153
<b>★ Capítulo 8: Determinación de parámetros sanguíneos de Armadillos y Zarigüeyas en condiciones de bioterio.</b>		
8. 1.	Introducción.....	158
8. 2.	Armadillos.....	167
8. 2. 1.	Hemograma y valores bioquímicos sanguíneos de <i>Chaetophractus villosus</i> y <i>Chaetophractus vellerosus</i> mantenidos bajo condiciones de bioterio.....	170
8. 2. 2.	Consideraciones finales de esta sección.....	187
8. 3.	Zarigüeyas.....	193
8. 3. 1.	Hemograma y valores bioquímicos sanguíneos de <i>Didelphis albiventris</i> y <i>Lutreolina crassicaudata</i> mantenidas bajo condiciones de bioterio.....	194
8. 3. 2.	Consideraciones finales de esta sección.....	220
<b>★ Capítulo 9: Agentes químicos para inmovilización y anestesia de Armadillos y Zarigüeyas en condiciones de bioterio.</b>		
9. 1.	Introducción.....	227
9. 2.	Drogas utilizadas.....	230
9. 3.	Monitoreo anestésico.....	241
9. 4.	Armadillos.....	245
9. 4. 1.	Contención química y anestesia quirúrgica en <i>Chaetophractus villosus</i> .....	245
9. 4. 1. 1.	Protocolos anestésicos para procedimientos quirúrgicos en <i>Chaetophractus villosus</i> .....	247
9. 4. 1. 2.	Resultados.....	250
9. 4. 1. 3.	Consideraciones finales de esta sección.....	252
9. 5.	Zarigüeyas.....	255
9. 5. 1.	Estudio preliminar de sedación y anestesia en <i>Didelphis albiventris</i> y <i>Lutreolina crassicaudata</i> .....	256
9. 5. 1. 1.	Resultados.....	260
9. 5. 1. 2.	Consideraciones finales de esta sección.....	263

9. 5. 2.	Protocolos anestésicos para procedimientos quirúrgicos en <i>Didelphis albiventris</i> y <i>Lutreolina crassicaudata</i> .....	264
9. 5. 2. 1.	Resultados.....	266
9. 5. 2. 2.	Consideraciones finales de esta sección.....	267

★ **Capítulo 10: Procedimientos quirúrgicos experimentales en Armadillos y Zarigüeyas.**

10. 1.	Introducción.....	270
10. 2.	Consideraciones quirúrgicas generales.....	273
10. 3.	Armadillos.....	277
10. 3. 1.	Implantación de electrodos craneales superficiales.....	278
10. 3. 2.	Desaferentación olfatoria periférica.....	284
10. 3. 3.	Sección de los pedúnculos olfatorios ( <b>PO</b> ). Exéresis de los bulbos olfatorios ( <b>BO</b> ). .....	289
10. 3. 4.	Sección de la comisura anterior ( <b>CA</b> ).....	294
10. 3. 5.	Exéresis del Órgano Vomeronasal ( <b>OVN</b> ).....	299
10. 3. 6.	Implante de electrodos craneales profundos.....	305
10. 3. 7.	Extirpación de Ganglio Cervical Anterior ( <b>GCA</b> ).....	311
10. 3. 8.	Extirpación de Glándula de Harder ( <b>GH</b> ).....	316
10. 4.	Zarigüeyas.....	326
10. 4. 1.	Implante de electrodos superficiales.....	327
10. 4. 2.	Sección de Pedúnculos Olfatorios ( <b>PO</b> ).....	333
10. 4. 3.	Exéresis de los Bulbos Olfatorios ( <b>BO</b> ).....	338
10. 4. 4.	Pancreatitis experimental.....	344
10. 4. 4. 1.	Sección bilateral del nervio esplácnico.....	346
10. 4. 4. 2.	Sección del nervio vago.....	349

★ **Capítulo 11: Conclusiones finales.**

11. 1.	Conclusiones finales.....	355
--------	---------------------------	-----

★ **Capítulo 12: Bibliografía de la Tesis.**

12. 1.	Bibliografía citada.....	359
	Total de páginas.....	397

**Fe de erratas:**

En los epígrafes de las **Figuras 6. 5.** y **6. 7.**, de la páginas 6 -17 y 6 -23 respectivamente, donde dice 400x, debe leerse 40x.

## **Resumen**

La elección de un adecuado modelo experimental suele ser el factor decisivo entre el éxito o el fracaso de un experimento. Los animales de experimentación no tradicionales suelen resolver problemas que hasta ese momento resultaban de difícil solución. Tal es el caso de los Armadillos y las Zarigüeyas. En esta Tesis se detallan numerosas aplicaciones en la investigación biomédica que confirman lo antedicho, particularmente para *Chaetophractus villosus* (peludo), *Chaetophractus vellerosus* (piche llorón), *Didelphis albiventris* (zarigüeya overa) y *Lutreolina crassicaudata* (zarigüeya colorada). Ratificando su consideración como Animales de Laboratorio No Tradicionales (ALNT). Se destaca la particular ubicación filogénica de estos animales, lo que refuerza la importancia de su estudio pormenorizado. Se definen las distintas formas de crianza en cautiverio bajo condiciones de bioterio para normalizar su mantenimiento. Se puntualizan los parámetros clínicos a observar para mantener las condiciones de salud anatómicas, fisiológicas y comportamentales adecuadas a fin de garantizar su uso experimental. Se describen diversos estudios y técnicas para lograr reproducción en cautividad de las mencionadas especies. Se puntualizan los estudios de crecimiento realizados a algunos grupos de animales nacidos en el bioterio bajo las condiciones de mantenimiento y las técnicas reproductivas descriptas. Se describen y analizan los valores de hemograma y bioquímica sanguínea de las especies en estudio a fin de iniciar la elaboración de un perfil sanguíneo de las mismas. Se detallan y comparan distintos protocolos sedantes y anestésicos con el objeto de normalizar las técnicas de contención química y anestesiología quirúrgica que garanticen el uso de estos modelos en cirugía experimental. Se relatan los períodos y etapas quirúrgicas de varios procedimientos quirúrgicos experimentales, considerando sus resultados. Las experiencias, descripciones y reflexiones que se relatan en la presente Tesis resultan una base admisible para proponer la generalización del uso de estos modelos animales no tradicionales.

## **Palabras clave:**

Armadillos, Zarigüeyas, Animales de laboratorio no tradicionales, Condiciones de Bioterio.

## **Abstract**

The choice of a suitable experimental model is often the decisive factor in determining the success or the failure of an experiment. The non-traditional experimental animals often solve hitherto intractable problems. This is the case of Armadillos and Opossums. Numerous applications in biomedical research confirming the above-mentioned, particularly for *Chaetophractus villosus* (large hairy armadillo), *Chaetophractus vellerosus* (screaming hairy armadillo), *Didelphis albiventris* (South American opossum) and *Lutreolina crassicaudata* (thick tail opossum) are detailed in this thesis, thus confirming their classification as Nontraditional Laboratory Animals (NTLA). Their particular phylogenetic placement is remarkable, which highlights the importance of a detailed study. Different forms of breeding and maintenance in captivity under laboratory conditions are defined in order to standardize the procedure. Clinical parameters to maintain the appropriate anatomical, physiological and behavioral health conditions are pointed out so as to ensure their experimental use. Several studies and techniques to achieve the reproduction of these species held in captivity are described and growth studies performed in some groups of animal born in animal facilities under the maintenance conditions and reproductive techniques described are stated. Hemogram and blood chemistry values of the species under study are detailed and analyzed, with the purpose of elaborating a blood profile for them. Several sedative and anesthetic protocols are detailed and compared, with the aim of standardizing the techniques of chemical restraint and surgical anesthesia ensuring the use of these models in experimental surgery. The periods and stages of several experimental surgical procedures are reported and its results are considered. The experiences, descriptions and reflections stated in this thesis result in a permissible basis for proposing the generalized use of these non-traditional animal models.

## **Keywords:**

Armadillos, Opossums, Non-traditional laboratory animals, Animal facilities.

## **Capítulo 1.**

### **Introducción General**

*“Para cada clase de investigación nos cuidaremos de indicar los animales adecuados. Esto es tan importante, que la solución de un problema fisiológico o patológico frecuentemente depende sólo de la apropiada elección del animal para que el resultado sea claro y completo”.*

Claudio Bernard (Bernard, 1959)

(C. Bernard, para muchos: «No fue un fisiólogo, es la fisiología misma»)

#### **1. 1. Introducción general.**

Es innegable que el uso de Animales de Laboratorio (AL) ha permitido el avance de las Ciencias Biomédicas. Todo modelo vivo usado para una investigación puede ser considerado animal de experimentación. La utilización, cada vez más ampliada, de animales en estudios científicos condujo al desarrollo de las Ciencias del Animal de Laboratorio.

Si hacemos un poco de historia, las observaciones de los animales del científico griego Aristóteles establecieron las bases de la Anatomía comparada y la Embriología. En el siglo II, el científico romano Galeno estableció los principios de la investigación experimental, convencido de que sólo las afirmaciones basadas en la experimentación podían conducir al desarrollo científico. Durante la Edad Media ocurrieron pocos avances científicos. Sin embargo, durante el Renacimiento se desarrolló un renovado interés en los descubrimientos científicos, siendo el Animal de Laboratorio un protagonista indiscutido. En el siglo XIX, especialmente la segunda mitad, se lograron un número significativo de avances médicos. Sólo por citar algunos, el primer uso de vacunas para prevenir las infecciones, el uso del éter como anestésico, etc. Otros avances incluyen la aceptación por parte de los cirujanos de ciertas técnicas para prevenir la infección y una mayor comprensión de la biología y las causas de las enfermedades infecciosas. Y los Animales de Laboratorio acompañaron siempre esta evolución. A comienzos del siglo XX la investigación científica alcanzó los niveles tecnológicos y de organización más altos. Los avances en la química, la radiología, la farmacología, la genética, la inmunología y otras ciencias básicas proporcionaron nuevas herramientas para el desarrollo de la ciencia. Estos avances proporcionaron nuevas aplicaciones para los Animales de Laboratorio.

*Armadillos y Zarigüeyas como Modelos Experimentales en la Investigación Biomédica:  
Contribuciones a la Generalización de su Uso*

La salud humana se benefició de la investigación basada en animales, lo que hizo que la opinión pública se volcara favorablemente hacia la tarea de los científicos. En 1915, el Dr. Simón D. Brimhall, de la Clínica Mayo de Rochester, Minnesota, se convirtió en el primer veterinario de Animales de Laboratorio. Hizo construir instalaciones especiales para alojar a los animales, desarrolló colonias de producción, investigó sus enfermedades, y participó en la investigación de los mismos. Los años '50 se caracterizaron por un resurgimiento de la conciencia humanitaria lo que dio comienzo a las Ciencias de Animales de Laboratorio como un campo organizado. Esto se apoyó en el aumento del financiamiento gubernamental de la investigación biomédica y a una mayor preocupación pública por el tratamiento humanitario de los animales usados en experimentación. La denominación Ciencias del Animal de Laboratorio incluye todas las áreas científicas que promueven la información y los procedimientos técnicos aplicables al cuidado de los Animales de Laboratorio. Esto incluye: cría, nutrición, conducta, salud, bienestar, producción, manejo y uso de las diversas especies de animales usadas en investigación. Si bien estos términos son de uso común, su aplicación a los AL ha tomado una trascendencia particular.

La Medicina Veterinaria del Animal de Laboratorio ha llegado a ser una especialidad reconocida y abarca el diagnóstico, el tratamiento y la prevención de las enfermedades de las diversas especies involucradas, así como su zootecnia. El campo de las ciencias del animal de laboratorio ha existido como especialidad reconocida desde los años '50, cuando un grupo de investigadores involucrados en el cuidado de animales de laboratorio promovió el desarrollo e intercambio de información sobre la cría y medicina de estos animales. De este modo comenzaron a nacer las distintas entidades internacionales abocadas al estudio, desarrollo, utilización y regulación de todo lo concerniente a los modelos experimentales vivos, lo que derivó en la actual excelencia en animales de experimentación tanto en lo que respecta a su calidad sanitaria como a su definición genética (Cohen, 1959; Lawson 1999).

Entre estas instituciones, pueden citarse como pioneras a:

- Animal Care Panel (ACP), 1950, derivó en
- American Association for Laboratory Animal Science (AALAS), 1967.
- Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care International (AAALAC International), 1965.
- Institute for Laboratory Animal Research (ILAR), 1952.
- International Council of laboratory Animal (ICLA), 1956; derivó en

- International Council of laboratory Animal Science (ICLAS), 1979.
- American College of Laboratory Animal Medicine (ACLAM), 1957.
- Canadian Association for Laboratory Animal Science (CALAS), 1962
- Canadian Council on Animal Care (CCAC), 1968.
- National Association for Biomedical Research (NABR), 1979.

Uno de los puntos más importantes en las investigaciones biomédicas, además de utilizar modelos experimentales de comprobada calidad microbiológica y adecuada definición genética, es la adecuada elección del modelo animal experimental. La confiabilidad de una experiencia, ensayo o prueba diagnóstica, que impliquen la utilización de Animales de Laboratorio, depende de la acertada elección de este modelo.

Cuando se elige el modelo animal inadecuado, el proyecto está destinado al fracaso o, en el mejor de los casos, a la falta de confiabilidad de sus resultados. No importa cuan costosos o sofisticados sean los aparatos utilizados, ni cuan complejos sean los trabajos estadísticos, si no hubo una acertada elección del modelo animal experimental los recursos humanos, técnicos y económicos se vuelven estériles.

La decisión de utilizar **Animales de Laboratorio No Tradicionales (ALNT)** como modelos experimentales suele resolver problemas que hasta ese momento resultaban imposibles de solucionar. Tal es el caso de los armadillos con respecto a la investigación en leprología (Storrs, 1971).

## **1. 2. ¿Qué es un de Animal de Laboratorio?**

Un Animal de Laboratorio puede ser considerado según su utilidad y aplicación como un:

- “reactivo biológico” cuando es utilizado para estudios de respuestas biológicas,
- “sujeto experimental” cuando es utilizado para estudios de procesos biológicos,
- o
- proveedor de productos biológicos (sueros, vacunas, anticuerpos, etc.)

Se puede decir también que un animal de laboratorio es “**tradicional**” cuando:

- su uso está generalizado,
- se conocen perfectamente sus parámetros clínico fisiológicos de referencia, y
- está normalizado su sistema de crianza bajo condiciones de bioterio a fin de obtener y mantener líneas y cepas estables con historia reproductiva confiable.

*Armadillos y Zarigüeyas como Modelos Experimentales en la Investigación Biomédica:  
Contribuciones a la Generalización de su Uso*

Muchas especies silvestres están en vías de ser consideradas de “laboratorio”, pero la insuficiente información sobre los sistemas de crianza y la poca difusión de su utilización hace que se los considere **Animales de Laboratorio No Tradicionales**.

Existen variadas razones para encarar la crianza de especies silvestres bajo condiciones de cautividad. Una de ellas es la utilización de las mismas como modelos experimentales para diversas investigaciones biológicas, básicas y aplicadas. Como ya se ha señalado: una apropiada elección del modelo animal permite optimizar los recursos en juego. El mejoramiento de los sistemas de cría y la utilización de estos animales en diversas áreas de la investigación biomédica hace que se conviertan en **ALNT**.

La transformación de un animal para experimentación en un Animal de Laboratorio implica un arduo camino lleno de dificultades. La crianza de especies silvestres bajo condiciones de Bioterio implica el conocimiento previo de datos anatómicos, fisiológicos, comportamentales y ecológicos de las especies en estudio, a fin de establecer las pautas del mantenimiento en cautividad. El logro de condiciones estrictas y rigurosas de cautividad y una perfecta estandarización del manejo de la colonia sin que aparezcan patologías clínicas y/o comportamentales, irá en beneficio de un sistema de crianza simple, repetible y económico.

Una de las mayores dificultades a las que se enfrentan los bioteristas e investigadores es la reproducción en cautividad de estas nuevas especies, con el objeto de obtener animales de edad y características parentales conocidas.

En los últimos años, tanto investigadores como bioteristas, han intensificado el estudio y la utilización de diversos **ALNT** a fin de optimizar los modelos biológicos experimentales más adecuados para cada investigación.

Entre estas merecen destacarse unos mamíferos muy particulares: los **armadillos** y las **zarigüeyas**.

### 1. 3. ARMADILLOS

---

Los **armadillos** son mamíferos euterios, poseen una verdadera placenta que comunica en forma directa la vida fetal con la de su madre durante la totalidad de la gestación (Grassè, 1955, 1980; Walker, 1968; Wilson y Reeder, 2005).

Habitan, en la actualidad, exclusivamente el continente americano y la mayor diversidad de especies se encuentra en América del Sur.

Es sorprendente que de esta enorme variedad de especies y siendo sólo una la que habita el territorio norteamericano (*Dasyus novemcinctus*), sea ésta sobre la que se han realizado el mayor número de investigaciones y reportes.

Estas especies adquieren gran importancia en las ciencias biomédicas a principios de la década de 1970 cuando se descubre su susceptibilidad al *Mycobacterium leprae* y el posterior desarrollo de lepromas bacilares comparables a los del hombre (Storrs, 1971).

Sin embargo ya a principios del siglo XX llamó la atención de los investigadores otra característica biológica de algunos de estos mamíferos: su poliembrionía específica; el argentino M. Fernández (1909) uno de los primeros en trabajar sobre el tema.

Además de los citados anteriormente, otros investigadores han resumido las diversas características y aplicaciones de los diversos armadillos a la investigación biomédica: Talmage y Buchanan (1954), Anderson y Benirschke (1966), Storrs y Burchfield (1984), Storrs (1989), Storrs y Greer (1973), Cuba-Caparó (1977).

Este cúmulo de reportes hace que sean considerados en la actualidad **ALNT**.

#### **1. 4. ZARIGÜEYAS**

---

Las **zarigüeyas** son marsupiales, mamíferos metaterios que no poseen una verdadera placenta que comunique en forma directa al feto con su madre durante la gestación. Conservan características tan primitivas tras haber experimentado pocas modificaciones evolutivas a lo largo de cientos de años, que algunos autores los consideran “fósiles vivientes” (Grassè, 1955; Walker, 1968; Wilson y Reeder 2005).

A éste grupo pertenecen *Didelphis albiventris* (zarigüeya overa o zarigüeya picaza) y *Lutreolina crassicaudata* (coligrueso o zarigüeya colorada), que integran la biodiversidad argentina.

Las especies vivientes se distribuyen sólo en dos regiones del mundo:

- a) América y
- b) Australia, Nueva Zelanda e islas adyacentes.

Ambos grupos son notoriamente diferentes. En América existen más de setenta especies de marsupiales y la mayor diversidad se encuentra en América del Sur.

Nuestro país exhibe un frondoso muestrario de la mayor parte de esta diversidad (Cabrera y Yepes, 1940).

Es sorprendente que de esta enorme variedad de especies y siendo sólo una la que habita el territorio norteamericano (*Didelphis virginiana*), sea ella la sobre la que se han realizado el mayor número de investigaciones y reportes.

Los marsupiales americanos, especialmente el género *Didelphis*, han probado ser excelentes modelos para las más diversas investigaciones biomédicas (Moore y Bodian, 1940; Krupp y Quillin, 1964; Sherwood y col, 1969; Jurgelski, 1974; Jurgelski y col., 1974; Jurgelski y Porter, 1974; Jurgelski, 1979; Iodice, 1988). Claro está que, para que éstas se lleven a cabo, es necesario el conocimiento básico de la biología y condiciones de mantenimiento y experimentación para éstos animales. El cúmulo de dichos conocimientos, sumados a su creciente utilización en diversas disciplinas, hace que sean considerados ya como **ALNT**.

### **1. 5. Objetivos de este Trabajo de Tesis**

El **objetivo general** del presente trabajo es establecer como ALNT a dos especies de armadillos y dos especies de marsupiales autóctonos de nuestro país, a partir de la bibliografía, de observaciones y de experimentación propias. Para tal fin se ha recolectado la mayor cantidad de información necesaria para la cría, el mantenimiento y uso experimental de los armadillos:

- *Chaetophractus villosus* (peludo) y
- *Chaetophractus vellerosus* (piche o piche llorón)

y los marsupiales:

- *Didelphis albiventris* (zarigüeya overa o zarigüeya picaza) y
- *Lutreolina crassicaudata* (zarigüeya colorada o coligrueso)

Los desarrollos como modelos experimentales de estas especies y las innovaciones que en estos aspectos se hicieron, se llevaron adelante en el Bioterio y Laboratorio de Fisiología del Instituto de Neurociencia (UBA-CONICET) y en el Instituto de Neurociencia (Facultad de Medicina-Universidad de Morón - CONICET).

### **Objetivos Específicos**

1. Normalizar y ampliar los conocimientos referidos a la manipulación, mantenimiento y cría de Armadillos en condiciones de cautividad.
2. Normalizar y ampliar los conocimientos referidos a la manipulación, mantenimiento y cría de Zarigüeyas en condiciones de cautividad.
3. Normalizar y ampliar los usos de Armadillos en la investigación Biomédica.
4. Normalizar y ampliar los usos de Zarigüeyas en la investigación Biomédica.
5. Investigar y establecer pautas de utilización de anestésicos, medicamentos y otras drogas de uso en experimentación Biomédica en Armadillo y Zarigüeyas.
6. Protocolizar los tiempos de distintas intervenciones quirúrgicas utilizadas en la investigación Biomédica en Armadillos y Zarigüeyas.

**1. 6. Hipótesis del presente Trabajo de Tesis.**

*Es posible establecer a los Armadillos (C. villosus y C. vellerosus) y a las Zarigüeyas (D. albiventris y L. crassicaudata) como Animales de Laboratorio No Tradicionales (ALNT), y esto permitirá abordar presentes y futuros problemas surgidos en la investigación Biomédica, abriendo nuevas perspectivas en este campo científico.*

Los resultados y conclusiones volcados en el presente Trabajo de Tesis Doctoral resultan de muchos años de labor investigativa realizada en dos etapas. La primera en las instalaciones del Bioterio Central de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (UBA) entre los años 1982-2000, y la segunda en la Facultad de Medicina de la Universidad de Morón entre los años 2001-2008, siempre dentro del Instituto de Neurociencia cuya dirección permanente corresponde al Dr. Jorge M. Affanni.

## **Capítulo 2.**

### **Importancia de los Armadillos y Zarigüeyas en la Investigación Biomédica**

#### **2. 1. Introducción.**

El uso de los modelos animales es fundamental para el estudio de los mecanismos anatómicos, fisiológicos, bioquímicos, moleculares y comportamentales tanto de los procesos normales como patológicos que afectan a los humanos y demás especies animales. La obtención de animales con características especiales ha sido una metodología empleada desde hace mucho tiempo. Estas técnicas han permitido la obtención de especies animales con características fijas como pueden ser razas, cepas, subcepas, líneas y sublíneas que han respondido a las necesidades de las distintas áreas de la investigación biomédica.

Recientes técnicas de biología molecular han desembocado en la obtención de modelos animales carentes de un solo gen (los denominados *knock out*). Estos animales han permitido el estudio del papel de cierto gen en procesos biológicos puntuales. Sin embargo, esta metodología tiene el problema de que el gen en cuestión puede participar también en otros procesos de relevancia vital que compliquen la evaluación experimental. Esta es la limitación que ofrecen los **modelos inducidos**, tanto quirúrgica como molecularmente.

La decisión de utilizar nuevos modelos experimentales suele resolver problemas que hasta ese momento resultaban imposibles de solucionar, estos nuevos modelos suelen ser animales de la fauna autóctona.

Existen variadas razones para encarar la crianza de especies silvestres bajo condiciones de cautividad. Una de ellas es la utilización de las mismas como modelos experimentales para diversas investigaciones biológicas, básicas y aplicadas. Una apropiada elección del modelo animal ha permitido optimizar los recursos en juego, tanto humanos como materiales. El mejoramiento de los sistemas de cría y la utilización de estos animales en diversas áreas de la investigación hace que se conviertan en Animales de Laboratorio No Tradicionales (**ALNT**). Entre éstos merecen destacarse unos mamíferos muy particulares: los **Armadillos** y los **Marsupiales**.

## **2. 2. ARMADILLOS**

---

Estas especies adquieren gran importancia en las ciencias biomédicas a principios de la década de 1970 cuando se descubre su susceptibilidad al *Mycobacterium leprae* y el posterior desarrollo de lepromas bacilares comparables a los del hombre (Storrs, 1971; Kirchheimer y Storrs, 1971; Storrs y col., 1974; Kirchheimer, 1976).

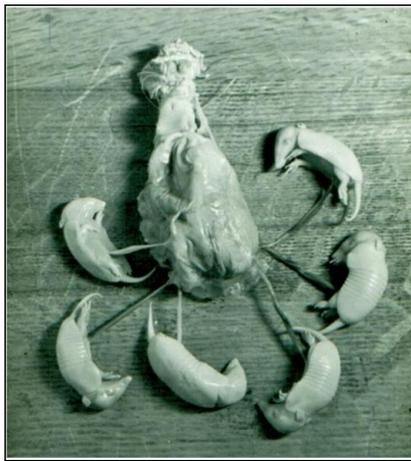
Sin embargo, ya a principios del siglo XX llamó la atención de los investigadores otra característica biológica de algunos de estos mamíferos: su poliembrionía específica; siendo el argentino M. Fernández (1909) pionero en el tema.

Es a partir de mediados del siglo XX cuando comienzan a desarrollarse el interés y las técnicas para criar al grupo en condiciones de cautividad (Talmage y Buchanan, 1954; Anderson y Benirschke, 1966; Storrs y Greer, 1973).

Las siguientes son algunas de las características que hacen que, los distintos géneros de Armadillos, sean tratados con tanto interés:

- Susceptibilidad natural a la lepra en estado silvestre (Storrs y Burchfield, 1984).
- Susceptibilidad experimental al *Mycobacterium leprae* por parte de otras especies del género *Dasypus* (Baliña y col., 1985).
- Presencia de lepra indígena y mycobacteriosis natural similar a la lepra humana (Meyers y col., 1978; Resoagli y col., 1982).
- Implantación diferida del blastocisto (Enders, 1960; Daniel y Krishman, 1969; Storrs y Burchfield, 1989; Storrs y col., 1989).
- Baja tasa metabólica comparada con mamíferos de pesos semejantes (Wislocki y Enders, 1935; Scholander y col., 1943; Burns y Waldrip, 1971).
- Poseen temperatura corporal relativamente baja (Ozorio de Almeida y de Almeida Fialho, 1924; Enders y Davis, 1936; McNab, 1980; Roig, 1969 y 1971; Roig y Henriquez, 1984).
- Recuperación espontánea de la fibrilación ventricular inducida por estímulos eléctricos (Szabuniewicz y col., 1970).
- Presencia de médula ósea en las placas dermales de las bandas dorsales que responde a cambios estacionales (Weiss y Wislocki, 1956).
- Poliembrionía monocigótica, ya nombrada, con conspicua estructura amniótica (Chapman, 1901; Fernández, 1909; Galbreath, 1985).

- La producción de gemelos idénticos del género *Dasyopus* los convierte en modelos óptimos para (**Fig. 2. 1.**):
  - Estudios histocompatibilidad y biología de trasplantes (Anderson y Benirschke, 1962; Billingham y Neaves, 1980).
  - Inmunología, biología del desarrollo y reproducción (Anderson y Benirschke, 1966; Purtilo y col. 1975).
  - Herencia (Chedd, 1968).
  - Interacción genético-ambiental en aprendizaje y comportamiento.



**Fig. 2. 1.**

Fotografía donde se observa la disección del útero de un ejemplar del género *Dasyopus* con preñez casi a término. Puede identificarse los cordones umbilicales de las crías, todos provenientes de un mismo saco placentario.

- Susceptibilidad a drogas teratogénicas para los humanos como la talidomida (Marin-Padilla y Bernirschke, 1963; 1965).
- Susceptibilidad a enfermedades zoonóticas (importancia epidemiológica) como:
  - Tripanosomiasis (Mazza y col., 1931; Romaña y Schürmann, 1931).
  - Fiebre aftosa (Campion, 1950).
  - Leptospirosis (Cacchione y col., 1966; Myers y col., 1977).
  - Carbunco y clostridiosis (Campion, 1959).
  - Toxoplamosis (Schenk y col., 1976).
  - Salmonelosis (Quevedo y col., 1978).
- Son eslabones de la cadena epidemiológica de diversas enfermedades de la fauna silvestre como:
  - Coccidiosis (Sampietro, 1978).

*Armadillos y Zarigüeyas como Modelos Experimentales en la Investigación Biomédica:  
Contribuciones a la Generalización de su Uso*

- Helminto parasitosis (Lombardero, 1970; Lombardero y Moriena, 1977; Martínez y Resoagli, 1982).
- Ectoparasitosis (Martinez y Resoagli, 1982).
- Larga expectativa de vida: de 12 a 15 años (ideal para experiencias crónicas) (Walker, 1968).
- Posible respuesta inmunitaria débil (Storrs, 1971).
- Posibilidad de mantener grandes deudas de oxígeno (Scholander y col., 1943).
- Susceptibilidad a la inoculación de agentes patógenos humanos:
  - Fiebre ondulante y esquistosomiasis (Storrs, 1971).
  - Tifus murino y Tifus exantemático (Magalhaes y Rocha, 1944).
  - Esquistosomiasis (Storrs, 1971).
- Frecuente mutaciones génicas expresadas en las placas el caparazón.
- Grandes cuerpos adrenales fetales.
- Relativa facilidad para realizar hipofisectomías.

Si bien esta es una enumeración sintética de gran parte de las características de la familia Dasipodidae, no todos los géneros las comparten. En lo específicamente referido al género *Chaetophractus*, poseen algunas otras particularidades que apuntalan nuestra propuesta como modelo experimental:

- Fácil acceso quirúrgico a diversos centros cerebrales (Affanni y García Samartino, 1984).
- Mucosa olfatoria muy desarrollada adecuada para estudios anátomo-fisiológicos (Ferrari y col., 1988).
- Neocorteza en forma de casquete superior para fácil decortificación quirúrgica (Benítez y col., 1994).
- Gran desarrollo de estructuras olfatorias del cerebro, dando un excelente modelo para estudio del sistema olfatorio (Benitez y col., 1994).
- Glándulas adrenales con alto nivel de biosíntesis de esteroides (De Nicola y Affanni, 1971).
- Particular desarrollo del tracto olfatorio y el paleocortex que permite estudiar la actividad bioeléctrica de distintas áreas del cerebro (Affanni y col., 1978; Cervino, 1997), el ciclo vigilia-sueño (García Samartino y col., 1974; Cervino 1997) y el

control centrífugo de la aferencia olfatoria (Affanni y col., 1973; Cervino 1999), entre otras peculiaridades.

En nuestro país se lo ha adoptado como modelo en estudios neurobiológicos y comportamentales desde hace muchos años.

El Instituto de Neurociencia, dirigido por el Dr. Jorge Affanni, ha sido un pionero en Argentina utilizando los Armadillos como modelos experimentales (Affanni, 1983).

Existe, además otro grupo de trabajo en nuestro país que utiliza Armadillos como modelos, es el encabezado por la Dra. Emma Casanave, con asiento en el Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia de la Universidad Nacional del Sur (Bahía Blanca, Argentina).

El citado grupo de trabajo liderado por el Dr. Jorge M. Affanni ha mostrado un particular interés en este grupo animal a través de muchos años y una enorme cantidad de trabajos publicados al respecto lo confirman, éstos merecen destacarse especialmente:

- ✓ 1968. Observations on the electric activity of the neocortex, paleocortex and olfactory lobe of the *Chaetophractus villosus*. J. M. Affanni, L. García Samartino y E. Morita, E.
- ✓ 1969. Interbulbar commissural olfactory pathway: an experimental study in the armadillo *Chaetophractus villosus*. J. M. Affanni, R. C. Caruso, L. García Samartino, T. A. Mascitti, M. A. Pavia, H. Primavera de Basso y R. R. Vaccarezza.
- ✓ 1971. Biosynthesis of steroids by the adrenal glands of the peludo *Chaetophractus villosus*, a South-American armadillo. A. F. De Nicola y J. M. Affanni.
- ✓ 1972. Sleep in the giant South American armadillo *Priodontes giganteus* (*Edentata*, *Mammalia*). J. M. Affanni, E. Lisogorsky y A. M. Scaravilli.
- ✓ 1972. Biosynthesis of steroid hormones by testes and ovaries of the peludo, *Chaetophractus villosus* (*Edentata*, *Mammalia*). F. E. Galli, O. Irusta, G. F. Wassermann y J. M. Affanni.
- ✓ 1972. Observations on sleep of some South American Marsupials and edentates. J. M. Affanni.
- ✓ 1973. Acción del Clorhidrato de Ketamina sobre la actividad eléctrica del bulbo olfatorio y la corteza piriforme de *Chaetophractus villosus*. A. M. Scaravilli, L. García Samartino, J. M. Affanni y A. M. Gori.
- ✓ 1973. Cambios en la actividad sinusoidal inducida de los bulbos olfatorios después de la sección de los pedúnculos olfatorios en *Chaetophractus villosus* (*Mammalia*, *Dasypodidae*). J. M. Affanni, L. García Samartino, A. M. Scaravilli y J. S. Panizza.

*Armadillos y Zarigüeyas como Modelos Experimentales en la Investigación Biomédica:  
Contribuciones a la Generalización de su Uso*

- ✓ 1974. Effect of the interruption of the connections of a simple cortical system (olfactory bulb) with the rest of the brain: comparative study in *ChaetophRACTUS villosus* (Tatou) and *Lagostomus maximus* (Viscache). A. M. Scaravilli, J. M. Affanni, J. S. Panizza y L. G. Samartino.
- ✓ 1974. Aumento bilateral de la duración de la respuestas olfatorias por sección de un pedúnculo olfatorio en *ChaetophACTUS villosus* (Mammalia, *Dasypodidae*). J. M. Affanni, L. García Samartino, A. M. Scaravilli y A. M. Gori.
- ✓ 1977. Invulnerabilidad cerebral del armadillo *ChaetophACTUS villosus* a la ligadura bilateral de los troncos carotídeos. J. M: Affanni, L. García Samartino y A. M. Gori.
- ✓ 1977. Técnica para la estimulación de receptores nasales en preparaciones crónicas. J. M. Affanni, A. M. Gori y L. Garcia Samartino.
- ✓ 1978. Técnica para la estimulación de receptores nasales en preparaciones crónicas. J. M. Affanni, A. M. Gori y L. Garcia Samartino.
- ✓ 1978. Técnica para la estimulación de receptores nasales en preparaciones crónicas. J. M. Affanni, A. M. Gori y OL. Garcia Samartino.
- ✓ 1979. Acción del Haloperidol sobre la actividad eléctrica del bulbo olfatorio de *ChaetophACTUS villosus*. J. M. Affanni, M. R. Papini y L. García Samartino.
- ✓ 1979-1980. Efecto del Haloperidol sobre el aprendizaje de discriminación visual y su extinción en el armadillo *ChaetophACTUS villosus*. M. R. Papini, A. M. Filipello, L. García Samartino y J. M. Affanni.
- ✓ 1981. Efecto de la sección de un pedúnculo olfatorio sobre la retención de un aprendizaje de discriminación visual, sobre la actividad motriz y sobre el número de bolas fecales eliminadas en el armadillo *ChaetophACTUS villosus*. J. M. Affanni, M. R. Papini, A. M. Filipello y A. E. Mustaca.
- ✓ 1982. El comportamiento agresivo intraespecífico del armadillo *ChaetophACTUS villosus* en condiciones de laboratorio. C. Campagna, M. R. Papini y J. M : Affanni.
- ✓ 1983. Zarigüeyas y armadillos abren nuevos horizontes a la investigación científica. J. M. Affanni.
- ✓ 1984. Comparative study of electrophysiological phenomena in the olfactory bulb of some South American marsupials and edentates. J. M. Affanni y L. Garcia Samartino.
- ✓ 1984. Spatial learning in South American opossums and armadillos. M. R. Papini, A. E. Mustaca y J. M. Affanni.
- ✓ 1985. Discrimination learning in the armadillo *ChaetophACTUS villosus*: A study of positional strategies. M. R. Papini, A. E. Mustaca y J. M. Affanni.

*Armadillos y Zarigüeyas como Modelos Experimentales en la Investigación Biomédica:  
Contribuciones a la Generalización de su Uso*

- ✓ 1985. Probability learning in the armadillo *Chaetophactus villosus*. A. E. Mustaca, M. R. Papini y J. M. Affanni.
- ✓ 1986. Successful procedures for obtaining Reproduction of *Chaetophactus villosus* and *Chaetophractus vellerosus* in laboratory conditions. O. H. Iodice y J. M. Affanni.
- ✓ 1986. Neocortical and olfactory bulb activity, in armadillos submitted to covering with soil. J. M. Affanni, E. B. Casanave, L. García Samartino y R. Ferrari.
- ✓ 1987. Absence of apnea in armadillos covered by soil. J. M. Affanni, L. García Samartino, E. B. Casanave y R. E. Dezi.
- ✓ 1987. On the presence of a peculiar alpha rhythm in the olfactory tubercle of waking armadillos. L. García Samartino, J. M. Affanni, E. B. Casanave, R. Ferrari y O. Iodice.
- ✓ 1993. The problems of the Argentinian researcher. J. M. Affanni.
- ✓ 1994. Body temperature of the armadillo *Chaetophractus villosus* (Mammalia, *Dasypodidae*). E. B. Casanave y J. M. Affanni.
- ✓ 1995. New and peculiar cytoplasmic membranous bodies in the acinar cells of the harderian gland of the armadillo *Chaetophractus villosus*. H. J. Aldana Marcos, I. Benítez y J. M. Affanni.
- ✓ 1995. Bradycardia in armadillos experimentally covered with soil. E. B. Casanave, L. García Samartino y J. M. Affanni.
- ✓ 1995. Decrease of body temperature in armadillos experimentally covered by soil. E. B. Casanave y J. M. Affanni.
- ✓ 1996. Standardization of fixation, processing and staining methods for the central nervous system of vertebrates. H. J. Aldana Marcos, C. C. Ferrari, I. Benitez y J. M. Affanni.
- ✓ 1996. Highly sensitive method for the determination of melatonin by normal-phase high-performance liquid chromatography with fluorometric detection. A. A. Vitale, C. C. Ferrari, H. Aldana y J. M. Affanni.
- ✓ 1997. Purification and partial structural characterization of a fatty acid-binding protein from the liver of the South American armadillo *Chaetophractus villosus*. B. M. Cavagnari, O. L. Córdoba, J. M. Affanni y J. A. Santomé.
- ✓ 1997. Breeding in captivity of the Southern lesser long-nosed armadillo *Dasypus hybridus* (*Edentata= Xenarthra: Dasypodidae*). Ferrari, C. C.; P. D. Carmanchai; M. L. Bolkovic y J. M. Affanni.

*Armadillos y Zarigüeyas como Modelos Experimentales en la Investigación Biomédica:  
Contribuciones a la Generalización de su Uso*

- ✓ 1998. A simple method for shooting photographs of histological sections without using neither photographic camera nor microscope. P. D. Carmanchahi, H. J. Aldana Marcos, C. C. Ferrari y J. M. Affanni.
- ✓ 1998. The brain of the armadillo *Dasypus hybridus*. A general view of its most salient features. C. C. Ferrari, H. J. Aldana Marcos, P. D. Carmanchahi, I. Benítez y J. M. Affanni.
- ✓ 1998. Olfactory mucosa of the South American armadillo *Chaetophractus villosus*: an ultrastructural study. C. C. Ferrari, H. J. Aldana Marcos, P. D. Carmanchahi y J. M. Affanni.
- ✓ 1998. Presence of a fatty acid-binding protein in the armadillo Harderian gland. B. M. Cavagnari, O. L. Córdoba, J. H. Veerkamp, J. A. Santomé y J. M. Affanni.
- ✓ 1999. The vomeronasal organ of the South American armadillo *Chaetophractus villosus* (*Xenarthra*, *Mammalia*): anatomy, histology and ultrastructure. P. D. Carmanchahi, J. H. Aldana Marcos, C. C. Ferrari y J. M. Affanni.
- ✓ 1999. Identification and localization of glycoconjugates in the olfactory mucosa of the armadillo *Chaetophractus villosus*. C. C. Ferrari, P. D. Carmanchahi, H. J. Aldana Marcos, M. T. Mugnaini, J. M. Affanni y D. A. Paz.
- ✓ 1999. Nuevo ritmo alfa y actividad gamma en los bulbos olfatorios de un armadillo sudamericano: cuantificación y perspectivas futuras. C. O. Cervino.
- ✓ 2000. Characterization of glycoconjugate sugar residues in the vomeronasal organ of the armadillo *Chaetophractus villosus* (*Mammalia*, *Xenarthra*). P. D. Carmanchahi, C. C. Ferrari, H. J. Marcos, J. M. Affanni, C. A. Sonez Y D. A. Paz.
- ✓ 2000. Ultrastructural characterisation of the olfactory mucosa of the armadillo *Dasypus hybridus* (*Dasypodidae*, *Xenarthra*). C. C. Ferrari, P. D. Carmanchahi, H. J. Aldana Marcos y J. M. Affanni.
- ✓ 2001. Absence of penile erections during paradoxical sleep. Peculiar penile events during wakefulness and slow wave sleep in the armadillo. J. M. Affanni, C. O. Cervino y H. J. Aldana Marcos.
- ✓ 2001. Acyl-CoA-binding protein in the armadillo Harderian gland: its primary structure and possible role in lipid secretion. B. M. Cavagnari, N. Sterin-Speziale, J. M. Affanni, J. Knudsen y J. A. , J.; Santomé.
- ✓ 2002. Histology, histochemistry and fine structure of the lacrimal and nictitans gland in the South American armadillo *Chaetophractus villosus* (*Xenarthra*, *Mammalia*). H. J. Aldana Marcos, C. C. Ferrari, C. Cervino y J. M. Affanni.

*Armadillos y Zarigüeyas como Modelos Experimentales en la Investigación Biomédica:  
Contribuciones a la Generalización de su Uso*

- ✓ 2005. Anatomy, histology, histochemistry and finestructure of the Harderian gland in the South American armadillo *Chaetophractus villosus* (*Xenarthra, Mammalia*). H. M. Aldana Marcos y J. M. Affanni.

### **2. 3. ZARIGÜEYAS**

---

Desde hace muchos años varios autores ya han resumido las particularidades y aplicaciones en la investigación de algunos marsupiales americanos (Moore y Bodian, 1940; Krupp y Quillin, 1964; Sherwood y col., 1969; Jurgelski, 1974; Jurgelski y col., 1974; Jurgelski y Porter, 1974; Iodice, 1988).

Siempre habido un interés renovado en el uso de marsupiales como modelos únicos para la investigación biomédica (Tyndale-Biscoe y Janssens, 1988; Saunders y Hinds, 1997). La mayor parte de los reportes hacen referencia a los marsupiales australianos, con características anátomo-fisiológicas y evolutivas muy diferentes a parientes americanos. Y dentro de estos últimos, el opossum de norteamérica (*Didelphis virginiana*) ha recibido un mayor interés científico hasta la fecha que cualquier otro marsupial de América.

El género *Didelphis* ha sido un modelo animal difundido entre los gastroenterólogos (Krause y Cutts, 1992; García y col., 1998a, 1988b) y han sido numerosos los estudios referidos a su biología reproductiva (Hartman, 1923 a, 1923 b, 1952), embriología temprana (Hartman, 1916 y 1919; McCrady, 1938), histogénesis y organogénesis (Krause, 1998a y 1998b), neurobiología del desarrollo (Martin y Wang, 1997) y regeneración de la médula espinal (Wang y col., 1998a y 1998b; Martin y col., 2000). Recientemente, una proteína pequeña conocida como **factor que neutraliza la toxina mortal** (LTNF) fue aislada del suero del oposum. Este factor ha demostrado ser un antídoto potente y eficaz para varias toxinas animales, vegetales y bacterianas. Se cree que la forma sintética de LTNF puede convertirse en una terapia universal contra las toxinas (Lipps, 1999 y 2000).

El siguiente es una brevísima enumeración de las disciplinas biomédicas en que las zarigüeyas han sido propuestas como modelo de investigación (para más información consultar: Iodice, 1988):

- Embriología.
- Epidemiología.
- Fisiología especial y comparada.
- Genética.
- Hematología.
- Inmunología.
- Microbiología.
- Neurobiología.
- Neuropatología.
- Oncología.
- Psicología comparada.
- Reproducción.
- Teratología.
- Toxicología.

Entre las características más sobresalientes de estos marsupiales que los diversos investigadores ya citados han enunciado, se destacan (para más información consultar: Iodice, 1988):

1. Particularidades reproductivas:
  - a. Tienen un breve período de gestación (12 – 13 días), que figura entre los más cortos para los mamíferos.
  - b. Poseen una placenta tipo saco vitelino que no se implanta y es cultivable *in-vitro*.
  - c. Nacen en un estado de gran inmadurez (semiembrionario).
  - d. Pasan la mayor parte de su desarrollo ontogénico dentro de la bolsa marsupial, al alcance del experimentador (**Fig. 2. 2**). Hay avanzados estudios con el objeto de obtener un “marsupio artificial”. Este logro, sumado a lo expuesto en los punto **b**) y **c**) podrían permitir la crianza d un mamífero desde su fecundación hasta la adultez totalmente *in-vitro*.
  - e. El embrión recibe una mínima influencia materna: el microambiente bursal y el aporte de leche (no hay comunicación sanguínea).
  - f. Posee alantoides que funciona como reservorio urinario, lo que permite el estudio de catabolitos durante la organogénesis.



**Fig. 2. 2.**  
Ejemplar de *Didelphis albiventris* con crías dentro de su marsupio durante el período de lactancia.

2. Particularidades ontogenéticas. La mayor parte de los procesos se producen fuera del útero y al alcance del experimentador, por ejemplo:
  - Formación del sistema inmune.
  - Desarrollo del cerebro en un 90 % aproximadamente.
  - Desarrollo de la función endócrina.
  - Formación de tejidos hematopoyéticos.
  - Desarrollo de la mayor parte del tejido pulmonar.
3. Particularidades morfofisiológicas:
  - Posee un nivel celular y orgánico de gran simplicidad y “esquematicidad” en comparación con euterios (esto facilita el estudio de la relación estructura-función).
  - Tiene la capacidad de regenerar miembros amputados mediante técnicas quirúrgicas experimentales durante las primeras etapas de su desarrollo, característica única dentro de los mamíferos.
  - Poseen cromosomas de gran tamaño, ideales para estudios genéticos.
  - Tiene temperatura corporal inferior a la de la mayoría de los mamíferos, evidentes ciclos térmicos y una particular termorregulación. Lo hacen ideal para el estudio de la evolución filogénica y ontogénica de los mecanismos de la termorregulación. Fueron considerados por mucho tiempo como homeotermos imperfectos.
4. Particularidades neuroanatómicas:
  - Presencia de un cerebro lisencefálico, que podría calificarse como “casi reptiliano”.
  - Ausencia cuerpo calloso.
  - Elevada posición de la fisura rhinalis sobre la cara lateral del hemisferio cerebral.
  - Enorme desarrollo relativo de los bulbos olfatorios y tubérculos olfatorios.
  - Cara dorsal del tronco cerebral no cubierta por otras estructuras encefálicas como el cerebelo. Esto hace que la zona sea de fácil abordaje quirúrgico preservando otras estructuras.
  - Vascularización cerebral basada en el tipo de circulación arterial terminal, en contraste con los demás mamíferos con vascularización de tipo reticular.
5. Particularidades neurofisiológicas:
  - prolongada plasticidad del recién nacido.

*Armadillos y Zarigüeyas como Modelos Experimentales en la Investigación Biomédica:  
Contribuciones a la Generalización de su Uso*

- Conspicuo ritmo EEG theta registrable a nivel neocortical durante el sueño activo o sueño REM.
- Ritmo EEG alpha de los bulbos olfatorios completamente diferente a los ritmos conocidos, con regulación nasal e influencias centrífugas del bulbo.
- Marcada asimetría de la actividad bioeléctrica de la corteza cerebral durante el sueño de ondas lentas.

Las características neuroanatómo y neurofisiológicas han sido de gran importancia en neurobiología comparada y, debido a la posición filogénica de los modelos, permite proponer teorías evolutivas relacionadas con el sistema nervioso.

6. Particularidades anatómicas, fisiológicas y comportamentales los convierten en modelos en fisiopatología humana, por ejemplo:

- La porción inferior del esófago reproduce algunas patologías humanas.
- Desarrolla endocarditis bacteriana espontánea e inducida.
- Presenta estados catatónicos frente a influencias ambientales y experimentales, similares a la catatonía acinética observada en humanos.
- Desarrolla tumores embrionarios inducidos similares a las neoplasias pediátricas.
- Desencadena estados epilépticos motores somatosensoriales ante deficiencias inducidas de lípidos.
- Presenta terminales nerviosas mucocutáneas idénticas a los corpúsculos de Meissner de los primates.
- Presenta vascularización cerebral de tipo terminal comparable a ciertas regiones del hipocampo humano.
- Desarrolla pancreatitis experimentales comparables a la humana

7. Importancia como modelo en comportamiento animal. La familia Didelphidae ha sido utilizada como modelo en estudios de comportamiento en los más variados enfoques de la psicología comparada, como por ejemplo:

- Agresividad
- Aprendizaje de reglas
- Aprendizaje espacial
- Condicionamiento operante
- Comportamiento social
- Bases neurobiológicas de la motivación
- Ecología el comportamiento

- Percepción sensorial
  - Visual
  - Olfatoria
  - Gustativa
  - Auditiva

Papini (1986) proporciona una completa reseña sobre los estudios comportamentales de los marsupiales. Por otra parte, la ubicación filogénica de estos mamíferos permite elaborar propuestas para estudios de evolución del comportamiento.

8. Importancia en epidemiología. Se ha determinado la susceptibilidad espontánea y/o experimental de diversas afecciones infecciosas y parasitarias, zoonóticas y no zoonóticas, que promueven a este grupo como modelo para el estudio de su importancia en la cadena epidemiológica de las mismas. Son algunas de las enfermedades:

- Babesiosis
- Besnoitiasis
- Borreliosis
- Brucelosis
- Capilariasis
- Dermatomicosis
- Dirofilariasis
- Ectoparasitosis diversas
- Encefalomiелitis equina
- Enfermedad de Aujeszky o Pseudorrabia
- Estomatitis vesicular
- Fiebre amarilla
- Helmintofauna silvestre
- Hemobartonellosis
- Klebsielosis
- Leishmaniasis
- Leptospirosis
- Micosis profunda
- Oxiuriasis
- Pateurelisis
- Rabia
- Rickettsiosis
- Salmonelosis
- Sarcosporidiosis
- Toxoplasmosis
- Trichinelosis
- Tripanosomiasis chagásica
- Tripanosomiasis equina

Reviste notable importancia la observación que Deane y col. (1984) ha realizado en cuanto a la epidemiología de la tripanosomiasis chagásica, ya que ha demostrado que el complejo ciclo vertebrado-invertebrado del *Tripanosoma cruzi* se cumple en un mismo hospedador: la zarigüeya. Del mismo modo es destacable el trabajo epidemiológico de tripanosomiasis en zarigüeyas realizado por Schweigmann y col. (1999). En cuanto a la

rabia, si bien son controvertidos los estudios al respecto, coinciden en que la zarigüeya es relativamente resistente a la infección natural, pudiendo inducirla experimentalmente.

Cabe aclarar que no todas las especies de marsupiales presentan todas estas características, sin embargo, el estudio de algunas especies poco investigadas puede ofrecer nuevas particularidades que aumenten la lista.

En nuestro país se ha estudiado y se están estudiando bajo condiciones de laboratorio distintas especies de la familia Didelphidae para investigaciones neurobiológicas (Jacob y Onelli, 1913; Affanni y col., 1967; Affanni y Morita, 1968; Affanni, 1972; Scaravilli y col., 1974; Iodice y col., 1985) y de psicología comparada (Papini y col., 1984; Mustaca y Haut, 1985; Papini, 1986).

Revisten importancia los estudios realizados a campo, en nuestro país, sobre estos marsupiales sudamericanos como estimadores del impacto epidemiológico de algunas enfermedades zoonóticas (Schweigmann y col., 1999; Pérez Carusi, 2006).

También en Brasil se ha adoptado a una especie de este grupo (*Didelphis marsupialis*) como modelo para el estudio del *Tripanosoma cruzi* (Carreira y col. 1996; Deane y col., 1983, 1986; Jansen y col., 1991; Jansen y Deane, 1994). Asimismo podemos encontrar reportes de la crianza en cautividad de esta especie que es la más abundante en Brasil (Dezonne Motta y col. 1983).

El Instituto de Neurociencia, dirigido por el Dr. Jorge Mario Affanni, ha sido un pionero en Argentina en la utilización de Zarigüeyas como modelos experimentales (Affanni, 1983).

Este equipo de trabajo, ha mostrado un particular interés en este grupo animal a través de muchos años y una enorme cantidad de trabajos publicados al respecto lo confirman, entre todos ellos merecen destacarse muy especialmente los referidos al estudio de la fisiología olfatoria:

- ✓ 1964. Observaciones sobre el sueño del marsupial *Didelphis azarae* (comadreja o zarigüeya). J. M. Affanni, O. L. Vaccarezza
- ✓ 1966. Electrocorticographic study of sleep in the opossum *Didelphis azarae*. J. M. Affanni y O. L. Vaccarezza.
- ✓ 1966 a. Influencia de los bulbos olfatorios sobre el sueño del marsupial *Didelphis azarae*. O. L. Vaccarezza y J. M. Affanni.
- ✓ 1966 b. Bioelectric activity of the olfactory bulb of the opossum, *Didelphis azarae*. O. L. Vaccarezza y J. M. Affanni.

- ✓ 1968. Influence of the olfactory bulbs on sleep in the marsupial *Didelphis azarae*. O. L. Vaccarezza y J. M. Affanni.
- ✓ 1967. Difference in electrical activity during wakefulness and the phase of 'sleep with muscular twitches' as recorded from the cortex of the marsupial *Didelphis azarae* (South American opossum). J. M. Affanni, O. L. Vaccarezza y J. C. Abellone.
- ✓ 1970. Effects de la section du peduncle olfactif et de la commissure antérieure sur l'activité électrique du bulbe olfactif de *Didelphis azarae*. J. M. Affanni y L. García Samartino.

#### **2. 4. Consideraciones finales del Capítulo**

Durante los últimos 20 años se produjeron significativos avances en biología molecular y celular que mejoraron la comprensión de la fisiología y la patología humana y animal. La investigación biomédica se encuentra ahora en una nueva era que intenta trasladar lo que se adquirió como conocimiento básico hacia una mejor prevención, diagnóstico y tratamiento de las enfermedades.

Este tipo de investigación necesita cada vez más de los modelos animales y algunos se han vuelto cada vez más sofisticados. El desarrollo y uso de animales transgénicos ha aumentado rápidamente en los últimos 7 a 10 años.

Muchos de estos animales, debido a sus características, requieren un intensivo monitoreo de sus características sanitarias y genéticas, un alojamiento complejo y acorde a dichas características y unos cuidados sumamente especiales.

El desarrollo de esta onerosa tecnología y la capacitación del personal adecuado requerirán inversiones cada vez más difíciles de encarar por muchos países e instituciones.

Todas estas variables demandarán una inversión económica realmente incalculable, que ampliarán cada vez más la brecha entre quienes tengan dinero suficiente para invertir y quienes no lo tengan.

Cabe preguntarse si una estrategia superadora para las instituciones y estados en desarrollo no será la de compensar las costosas tecnologías de punta con originales modelos experimentales. En este contexto, los modelos no tradicionales cobran una importancia insoslayable y una trascendencia insospechada.

## **Capítulo 3.**

### **Origen y Distribución de Armadillos y Zarigüeyas.**

#### **3. 1. Introducción.**

En los capítulos precedentes se ha planteado la importancia de elegir modelos biológicos experimentales adecuados y se ha resaltado en particular dos grupos animales con enormes potencialidades en la aplicación biomédica. Es adecuado ahora aproximarnos a un resumido informe del origen y distribución de estas especies.

Acordemos que especie es la unidad que categorizamos a todos los seres vivientes, incluido el humano. Especie es el grupo de organismos que pueden reproducirse y producir descendencia fértil.

En general, los individuos de una especie se reconocen porque son similares en su forma y función. Sin embargo, muchas veces los individuos de una especie son diferentes. Por ejemplo, puede haber grandes o pequeñas diferencia entre machos y hembras; también puede haber contrastes dentro de la misma especie según distintas etapas de la maduración del individuo. Por otro lado, puede ocurrir lo contrario, algunas especies distintas son muy similares y a veces se hace difícil distinguirlas aun para los ojos del más experto.

Antiguamente, las especies se clasificaban solamente de acuerdo a su forma. Quien lo propuso fue Carolus Linneo (1707-1778), botánico, naturalista y explorador sueco. Él propuso asignar a cada especie un par de nombres: género y especie, por lo que a este sistema de clasificación se lo conoce como el sistema binomial. La especie es única y el género la relaciona con otras especies emparentadas. Posteriormente los géneros se fueron agrupando en familias, luego en órdenes, fila, etc., hasta conformar hoy una compleja red de parentescos.

En la actualidad ya no se clasifican sólo por sus formas, sino que las innovadoras técnicas de análisis de ADN nos permiten conocer la identidad y la relación de parentesco entre las especies con mucha más precisión

Dependiendo de su historia y de sus capacidades de dispersión las especies pueden ocupar grandes extensiones de territorio o estar restringidas a pequeñas regiones. Las actividades humanas, los cambios ambientales y las interacciones con otros grupos de seres vivos constantemente modifican las áreas de distribución de las especies, creando y destruyendo hábitats, estableciendo barreras y corredores y transportando accidental o

voluntariamente a las especies a nuevos lugares. Como consecuencia de estas variaciones aparecen designaciones aclaratorias para las especies:

- Especie nativa. Especie que se encuentra dentro de su área de distribución natural u original
- Especie endémica. Especie que se encuentra restringida a una región. El término endémico es relativo y siempre se usa con referencia a la región.
- Especie exótica. Especie introducida fuera de su área de distribución original.
- Especie invasora. Especie que por nuevas condiciones creadas en su ambiente aumenta su población y distribución geográfica.

Los estudios indican que los marsupiales (*Metatheria*) y los placentarios (*Eutheria*) tienen un origen común y que su divergencia se produjo en el Cretácico temprano (Romer, 1966).

A continuación se resume el origen y distribución actual de las especies que nos ocupa.

### 3. 2. ARMADILLOS

---

Los *Xenarthra* conforman un conjunto heterogéneo de mamíferos euterios exclusivamente americanos, que constituye sin duda, uno de los grupos más característicos de la fauna neotropical (sólo una especie, *Dasybus novemcinctus*, excede su límite norte al instalarse en México y sur de EE.UU.).

El grupo está compuesto por varias familias y géneros, todos provistos de extremidades robustas y uñas muy desarrolladas que se encuentran adaptadas las necesidades establecidas por los hábitos cavícolas o arborícolas según las especies de que se trate.

Antiguamente se los llamaba Desdentados, tomando en cuenta que algunas especies del grupo tenían las mandíbulas atrofiadas y carecían de piezas dentarias. Dado que esta característica no era generalizada en todos los integrantes del grupo, la denominación cayó en desuso.

También se los clasificó clásicamente bajo el nombre ordinal de *Edentata* en el cual se incluían, además de los actuales xenartros, a los pangolines y al cerdo hormiguero africano. La sistemática actual ubica a los primeros en *Pholidota* y al segundo en *Tubulidentata*, separándolos por consiguiente de *Xenarthra*.

El término xenartros se refiere a la característica anatómica consistente en que en la columna vertebral, en los arcos de las vértebras lumbares y en algunos casos también de las dorsales, existen cigapófisis accesorias para cada una de las correspondientes articulaciones (Cabrera y Yepes, 1940).

En la historia evolutiva de los Xenarthros aún quedan numerosas incógnitas y hay enfoques controvertidos con respecto a su origen y relaciones entre taxa fósiles y vivientes. Se postularon diversas hipótesis sobre sus afinidades filogenéticas, muy difíciles de establecer, y en general, fueron separados de los otros grupos de mamíferos (Reig, 1981).

Se los ha postulado, incluso, como el grupo de euterios más primitivo. Presenta una estructura particular de los huesos del oído medio (el estribo en particular) que difiere totalmente del resto de los euterios (placentarios) y los acerca filogénicamente a monotremas y metaterios. Es por esto que se divide a *Eutheria* en *Xenarthra* y *Epitheria*, englobando este último clado a todos los mamíferos euterios excepto a los xenartros.

Los *Xenarthra* reúnen actualmente a perezosos osos hormigueros y armadillos.

La hipótesis que los considera como grupo hermano de todos los demás euterios (McKenna, 1975), ha recibido recientemente apoyo teórico y empírico (Engelmann, 1985). En efecto, estudios inmunológicos de las albúminas séricas (Sarich, 1985) indican que la radiación de los xenartros comenzó hace por lo menos 75 u 80 millones de años. De acuerdo a los restos fósiles conocidos, los primeros mamíferos surgieron hace 150 millones de años, en tanto que la dicotomía *Metatheria-Eutheria* ocurriría hace 110-130 millones de años, es decir en la base del Cretáceo. Con la desaparición de los grandes reptiles al final del Cretáceo y comienzo del Paleoceno, se produjo la expansión, desarrollo y diversidad de los mamíferos (Grassè, 1955; Padoa, 1963; Simpson, 1964; Romer, 1965).

A partir del Eoceno este grupo presentó una radiación adaptativa notable. La ruptura de las relaciones geográficas entre ambas Américas, en los comienzos del Cenozoico, dio origen a un gran continente-isla y dejó aislados a los primeros mamíferos primitivos inmigrantes. De esta fauna derivan los xenartros, que se originaron en América del Sur y que nunca salieron del continente americano. En el semiaislamiento del terciario sudamericano, el cual se tradujo en un número importante de subfamilias, el grupo alcanzó un notable incremento en número y diversificación durante el Plioceno-Pleistoceno, probablemente por el avance del ambiente pampeano. Pero a finales del Pleistoceno, casi todas las subfamilias se habían extinguido por causas probablemente diversas: predación por especies carnívoras provenientes del Norte, modificaciones climáticas y la aparición del hombre (Patterson y Pascual, 1968).

El origen antiguo y el aislamiento geográfico llevaron al grupo de los xenartros a una temprana especialización para tipos de vida muy determinados que enmascararon las características que poseían de sus antepasados. Los integrantes de este grupo evolucionaron en dos líneas de radiación adaptativa: los osos hormigueros, los perezosos y los gravígrados por un lado, y los gliptodontes y armadillos por el otro.

La denominación actual de *Xenarthra* corresponde a un **Superorden** que abarca a los perezosos osos hormigueros y armadillos (McKenna y Bell, 1997). También pertenecían a los *Xenarthra* los gliptodontes y perezosos terrestres ya extinguidos. Este **Superorden** se divide a su vez en dos **Órdenes**:

- *Pilosa* (perezosos y osos hormigueros) y
- *Cingulata* (armadillos).

El orden *Pilosa* se subdivide dos subórdenes:

- a. *Vermilingua* con las familias *Bradypodidae* y *Megalonychidae* (osos hormigueros); y

- b. *Folidota* que incluyen las familias *Cyclopedidae* y *Myrmecophagidae* (perezosos).

El orden *Cingulata* posee una sola familia:

- a. *Dasypodidae*, que incluye a los armadillos, alguna de cuyas especies son objeto de estudio del presente trabajo.

En algunas publicaciones se mantiene la clasificación de:

- **Orden *Xenarthra*,**
  - **Suborden *Pilosa*** (osos hormigueros y perezosos) y
  - **Suborden *Cingulata*** (armadillos).

Los Armadillos actuales se distribuyen exclusivamente en la Región Biogeográfica Neotropical (**Figura 3. 1**), sólo una especie, *Dasyus novemcinctus*, excede su límite norte al instalarse en México y sur de EE.UU.



**Figura 3. 1.**

Mapa que indica la Región Biogeográfica Neotropical.  
(Adaptado de Farber y Raizboim. 1996-2002).

Los *Cingulata*, armadillos, pampaterios y gliptodontes (estos dos últimos ya extinguidos) se cuentan entre los grupos más representativos de mamíferos cenozoicos sudamericanos. Su batería dentaria se caracteriza por la homodoncia, la hipselodoncia y la ausencia de esmalte en la casi totalidad de las formas conocidas. Se ha propuesto que estas peculiaridades se relacionan con una adaptación primigenia a la insectivoría y representan una fuerte señal filogenética que restringió, o al menos condicionó, la adaptación a otros

tipos de hábitos alimentarios. Sin embargo, la gran diversidad de formas registradas sugiere un abanico de posibilidades adaptativas que abarca desde mirmecófagos especializados hasta carroñeros o predadores, entre las formas animalívoras; y desde ramoneadores selectivos hasta pastadores que se alimentan al bulto, entre las herbívoras, e incluye formas omnívoras. Mientras que los armadillos (*Dasypodidae*) desarrollaron hábitos variados, fundamentalmente animalívoros pero también omnívoros y herbívoros; mientras que los extinguidos pampaterios (*Pamphathiidae*) y gliptodontes (*Glyptodontidae*) habrían sido sólo herbívoros (Vizcaíno y col., 2004).

Los *Dasypodidae*, familia que nos ocupa en particular, conforman un grupo natural relativamente homogéneo, a pesar de su aparente variedad. Autóctonos de Sudamérica, comprenden varias ramas filogenéticas, a partir de un grupo axial cuya radiación adaptativa se inició, por lo menos, en la base del terciario. Es de destacar los mínimos cambios que sufrió el grupo a lo largo de su historia evolutiva si se considera que los primeros ejemplares fósiles (*Utaectus*, *Prostegotherium*) no difieren básicamente de los actuales, remontándose el registro fósil al Paleoceno de Argentina y Brasil (Ameghino, 1913/36; Simpson, 1948; Scillato-Yane, 1982).

La familia *Dasypodidae* comprende en la actualidad 9 géneros vivientes que abarcan 21 especies (Wilson y Reeder, 2005). Reciben diversos nombres, siendo el más común el de armadillo.

Ocupan una gran variedad de nichos ecológicos, encontrándose perfectamente adaptados a los mismos (Newman, 1913; Baker, 1943; Crespo, 1944; Pacheco y Naranjo, 1978; Greigor, 1980 y 1985; Contreras y Marchetti, 1984). Se extienden desde el sur de EE.UU. hasta el estrecho de Magallanes (Wetzel, 1982). Con respecto a la distribución actual del grupo, se considera que existiría cierta relación entre el tamaño corporal y las características climáticas, dadas que las especies de mayor tamaño corporal son estrictamente tropicales (McNab, 1980 y 1985). Otro factor que afecta la distribución de este grupo es la disponibilidad de agua, pues las condiciones de aridez afectan seriamente a algunos géneros (Clark, 1951; Humphrey, 1974); en el caso de *C. vellerosus*, por el contrario, se encuentra perfectamente adaptado al ambiente desértico debido, en parte, a la eficiencia de su riñón “xérico” (Greigor, 1975).

El género *Chaetophractus* se distribuye exclusivamente en América del Sur (**Figuras 3. 2. A y B**), habitando selectivamente en Paraguay, Bolivia, Chile y Argentina (Wilson y Reeder, 2005; Abba, 2008). *Chaetophractus vellerosus* (**Figura 3. 3.**) tiene una distribución más acotada que *Chaetophractus villosus* (**Figura 3. 4.**) a lo largo de este

amplio territorio (Soibelzon y col. 2007). Presenta, además, dos poblaciones disjuntas en la provincia de Buenos Aires (Argentina), separadas por más de 500 km (Abba, 2008). A *Chaetophractus villosus* se lo encuentra actualmente hasta en Tierra del Fuego (Argentina) (Poljak y col., 2004).



**Figura 3. 2. A.**  
Distribución de *Chaetophractus villosus*.  
(Adaptado de Wilson y Reeder, 2005 y Abba, 2008).



**Figura 3. 2. B.**  
Distribución de *Chaetophractus vellerosus*  
(Adaptado de Wilson y Reeder, 2005 y Abba, 2008).



**Figura 3. 3.**

Foto de un ejemplar de *Chaetophractus vellerosus*.



**Figura 3. 4.**

Foto de un ejemplar de *Chaetophractus villosus*.

En la **Tabla 3. I.** es la clasificación taxonómica de las especies de armadillos del género *Chaetophractus*, según McKenna y Bell (1997). Entre ellos sólo serán tratados en esta tesis las especies *C. villosus* y *C. vellerosus*.

**Tabla 3. I.**

Sistemática de *Chaetophractus villosus* (peludo) y *C. vellerosus* (pichi llorón) según McKenna y Bell (1997).

<p><b>Phylum:</b> <i>Chordata</i></p> <p><b>Clase:</b> <i>Mammalia</i></p> <p><b>Subclase:</b> <i>Theria</i> (Parker &amp; Haswell, 1897)</p> <p><b>Infraclase:</b> <i>Eutheria</i> (Gill 1872)</p> <p><b>Superorden:</b> <i>Xenarthra</i> (Cope, 1889)</p> <p><b>Orden:</b> <i>Cingulata</i> (Illiger, 1811)</p> <p><b>Superfamilia:</b> <i>Dasyphodidae</i></p> <p><b>Familia:</b> <i>Dasyphodidae</i> (Bonaparte, 1838)</p> <p><b>Subfamilia:</b> <i>Dasyphodinae</i> (Gray 1821)</p> <p><b>Tribu:</b> <i>Euphractini</i> (Pocock, 1924)</p> <p><b>Género:</b> <i>Chaetophractus</i> (Fitzinger, 1871).</p> <p><b>Especie:</b> <i>C. villosus</i> (Demarest, 1804). <i>C. vellerosus</i> (Gray, 1865).</p>
---

### **3. 3. ZARIGÜEYAS**

---

Se considera que los marsupiales (*Metatheria*) y placentarios (*Eutheria*) tienen un origen común y que su divergencia tuvo lugar más o menos simultáneamente en el Cretácico temprano (Romer, 1966).

Los fósiles más antiguos de *Metatheria* provienen de la Formación del Río Milk, Alberta, Canadá (Fox, 1971), del Cretácico tardío (70-80 millones de años), y de Laguna Umayo, Perú (Sigé, 1972).

Por otra parte, los *Eutheria* más antiguos provienen de la Formación Djadokhta, Mongolia, de aproximadamente la misma edad que la del Río Milk. Por lo tanto, durante el Cretácico tardío existían marsupiales viviendo en América del Norte y del Sur, y placentarios en América del Norte y Asia.

Al separarse Sudamérica de las otras masas continentales, localizadas en el Hemisferio Sur (África y Australia), su fauna se restringía a unos pocos marsupiales, edentados y ungulados primitivos (Keast, 1972). Sin embargo, este continente alcanzó una fauna muy rica durante el terciario, producto de la especiación, y de la migración de grupos del norte que cruzaron el Canal Centroamericano, que separaba a Norte América de Sudamérica (Patterson y Pascual, 1972).

En el paleoceno (58-63 millones de años) se desarrolló una radiación de marsupiales en América del Sur. Estas especies compartían el continente con placentarios tales como edentados y ungulados (Patterson y Pascual, 1968).

Una radiación mayor tuvo lugar en Australia durante el Terciario. Desgraciadamente, se conoce poco sobre la fauna australiana del Terciario temprano; el marsupial fósil más antiguo es *Wynyardia* (Oligoceno superior, aproximadamente 26 millones de años), posiblemente arborícola (Keast, 1977).

La teoría de la tectónica de placas permite emitir la hipótesis sobre la distribución actual de los marsupiales, que se encuentran sólo en América, Australia, Tasmania, Nueva Guinea y algunas islas cercanas. Los marsupiales pudieron haberse originado en América del Norte o del Sur (Kirsch, en 1977, sugirió un origen australiano). Desde América del Norte pasaron a Europa, donde se hallaron fósiles (*Peratherium*) del Eoceno-Mioceno, y de allí, posiblemente, a África (Bown y Simon, 1984).

En el Cretácico, América del Norte se separó de América del Sur, y en ésta se produjo una importante radiación adaptativa. A través de Antártida, los marsupiales pudieron haber ingresado en Australia durante el Cretácico superior o el Paleoceno. A

partir del Terciario, la Antártida comenzó a moverse hacia el sur, enfriándose (Pascual, 1984).

En Australia, los marsupiales evolucionaron sin contacto con *Eutheria*, produciéndose una radiación tal vez mayor que la del Paleoceno de Sudamérica. Durante el Terciario, América del Sur fue invadida dos veces por nuevos *Eutheria*. La primera tuvo lugar a mediados del Terciario (Eoceno tardío-Oligoceno), pudo haberse originado en África (Hoffstetter, 1972) o en América del Norte (Patterson y Pascual, 1972), e ingresaron primates plitirinos y roedores caviomorfos. La segunda ocurrió en el Plioceno, al restablecerse el istmo de Panamá, e involucró un importante intercambio faunístico (Marshall y col., 1982) entre las Américas, con la incorporación a la fauna sudamericana de roedores cricétidos y carnívoros. Esta cohabitación con los carnívoros limitó la radiación y diversificación que sí se dio en Australia. Esta competencia hizo que los marsupiales carnívoros originarios de América del Sur (posiblemente desde el Eoceno) se extinguieron (Patterson y Pascual, 1972; Marshall y col., 1982).

Como contrapartida, uno de los marsupiales sudamericanos, *Didelphis virginiana*, ingresó a América del Norte, siendo hoy la única especie marsupial que habita este subcontinente (Tyndale-Biscoe, 1979; McNab, 1986; Eisenberg, 1989 a).

En la actualidad los marsupiales conforman siete órdenes, tres americanos (Superorden *Ameridelphia*) y cuatro de la región australásica (Superorden *Australidelphia*) (Montero y Autino, 2004). En América se distribuyen en la Región Biogeográfica Neotropical, excepto la especie *Didelphis virginiana* que llega a los EE.UU. y sur de Canadá (Vaughan y col. 1999; Martin y col. 2001; Wilson y Reeder, 2005). En la **Figura 3.1** se puede ver el alcance de la Región Biogeográfica Neotropical.

De los órdenes americanos nos ocupa el *Didelphimorphia* compuesto por una sola familia: *Didelphidae*. En nuestro país existen entre once y doce géneros pertenecientes a esta familia según Mares y Braun (2000) o Massoia y col. (2000). Los géneros a los que se hará referencia en esta tesis son: *Didelphis* y *Lutreolina*.

El género *Didelphis* cuenta en la actualidad con seis (6) especies representativas de las cuales sólo *D. albiventris* (zarigüeya overa) será tratada en el presente trabajo. Las diferentes especies del género y su distribución geográfica pueden verse en la **Tabla 3. II** (Tyndale-Biscoe, 1979; Gardner, 1982; Cerqueira, 1985; Lemos y Cerqueira, 2002). Este género es uno de los que más amplia distribución geográfica tiene, no sólo en América sino en el mundo (Hunsaker, 1977).

**Tabla N° 3. II.:**

Distribución geográfica de las especies del género *Didelphis* (Tyndale-Biscoe, 1979; Cerqueira, 1985; Gardner, 1982; Lemos y Cerqueira, 2002).

ESPECIE	DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA
<i>D. virginiana</i> (la más septentrional)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sur de Canadá</li> <li>• EEUU</li> <li>• México</li> </ul>
<i>D. marsupialis</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• América Central</li> <li>• Norte de Colombia</li> <li>• Andes Ecuatoriales</li> <li>• Pacífico Ecuatorial</li> <li>• Desierto de la Costa Pacífica</li> <li>• Sierras Tucumanas-Bolivianas</li> <li>• Selva Amazónica</li> </ul>
<i>D. aurita</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Norte de Argentina</li> <li>• Nordeste de Brasil</li> </ul>
<i>D. imperfecta</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sudeste de Venezuela</li> <li>• Norte de Brasil</li> </ul>
<i>D. pernigra</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Región Andina (este de Venezuela, Colombia, Ecuador, Perú)</li> </ul>
<i>D. albiventris</i> (la más austral)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Nordeste de Brasil</li> <li>• Paraguay</li> <li>• Uruguay</li> <li>• Argentina (hasta límite patagónico)</li> </ul>

A pesar de su tremenda capacidad de adaptación a prácticamente cualquier bioma, el género *Didelphis* prefiere los ambientes húmedos de la jungla y el bosque templado, si bien son capaces de sobrevivir en numerosos ecosistemas incluyendo espacios relativamente áridos o considerablemente fríos. Esto hace que se desarrollen mayormente en la Región Biogeográfica Neotropical, excepto *D. virginiana* que, como ya se dijo, coloniza también EE.UU y parte de Canadá (Vaughan y col. 1999; Martin y col. 2001; Wilson y Reeder, 2005).

En la **Figura 3. 4** se puede observar la distribución aproximada de *D. marsupialis* y *D. albiventris* (**Figura 3. 5**).

El género *Lutreolina* cuenta con una (1) sola especie: *L. crassicaudata* (zarigüeya colorada) (**Figura 3. 6**), la cual se incluye también en este estudio (Walker, 1968; Hunsaker, 1977).



**Figura 3. 4.**

Mapa de distribución de:

- *Didelphis marsupialis*
- *Didelphis albiventris*

(Adaptado de Wilson y Reeder 2005).



**Figura 3. 5.**

Foto de un ejemplar adulto de *Didelphis albiventris* (zarigüeya overa).



**Figura 3. 6.**

Foto de un ejemplar adulto de *Lutreolina crassicaudata* (zarigüeya colorada).

La zarigüeya colorada, también conocida como coligrueso, habita exclusivamente Sudamérica, lo hace en dos núcleos poblacionales distanciados geográficamente, uno en Colombia, Venezuela y Guyana (aún poco estudiado), y otro desde el este de Bolivia y centro de Brasil, hasta el noreste de la patagonia argentina, pasando por Paraguay y Uruguay (**Figura 3. 7**).



**Figura 3. 7.**

Mapa de distribución de *Lutreolina crassicaudata* (Adaptado de Wilson y Reeder 2005).

Es debido al aspecto de esta especie en particular, que recuerda a la de un mustélido europeo, euterio, que los españoles al llegar a Sudamérica comenzaron a llamar “comadrejas” a estos mamíferos marsupiales, que no están emparentados con las verdaderas comadrejas europeas. Así, particularmente en nuestro país, a las zarigüeyas vulgarmente se les menciona con ese nombre.

La ubicación taxonómica de las especies de marsupiales en estudio se muestra en la **Tabla 3.III.**

**Tabla 3.III.**

Sistemática de *Didelphis albiventris* (zarigüeya overa) y *Lutreolina crassicaudata* (zarigüeya colorada).

<b>Reino:</b> <i>Animalia</i>
<b>Subreino:</b> <i>Eumetazoa</i>
<b>Rama:</b> <i>Bilateria</i>
<b>Filo:</b> <i>Chordata</i>
<b>Subfilo:</b> <i>Vertebrata</i>
<b>Superclase:</b> <i>Gnathostomata</i>
<b>Clase:</b> <i>Mamalia</i>
<b>Subclase:</b> <i>Metatheria</i>
<b>Superorden:</b> <i>Ameridelphia</i>
<b>Orden:</b> <i>Didelphimorphia</i>
<b>Familia:</b> <i>Didelphidae</i>
<b>Subfamilia:</b> <i>Didelphinae</i>
<b>Tribu:</b> <i>Didelphini</i>
<b>Género:</b> <i>Didelphis</i>
<b>Especie:</b> <i>albiventris</i>
<b>Género:</b> <i>Lutreolina</i>
<b>Especie:</b> <i>crassicaudata</i>

### **3. 4. Consideraciones finales del Capítulo:**

Lo expuesto en este capítulo es a las claras de neto contenido paleontológico y ecológico. Puede considerarse *a priori* muy alejado del ámbito de los laboratorios experimentales y de los animales de laboratorio.

Sin embargo, al observar la particular ubicación taxonómica, tanto de los marsupiales sudamericanos como de los armadillos, no deja de llamar la atención la importancia de profundizar las investigaciones acerca de estos dos grupos.

Esta búsqueda no solo ampliaría el horizonte de la aplicación de estas especies en las más variadas áreas de la investigación biomédica, sino que prometen ser de un valor insospechado en el ámbito de toda la investigación biológica en general por las implicancias evolutivas que los hallazgos puedan tener.

No debe pasar desapercibida la sorprendente coincidencia de que ambos grupos tratados en esta tesis son de exclusiva distribución Neotropical, salvo una especie de cada grupo que se distribuye septentrionalmente a la misma.

## **Capítulo 4.**

### **Características generales de Armadillos y Zarigüeyas.**

#### **4. 1. Introducción**

El uso de la fauna silvestre para la investigación, la enseñanza y los ensayos biológicos es aceptable sólo si contribuye a la comprensión de la diversidad y de los principios biológicos o cuando los resultados que puedan obtenerse implican importantes beneficios para la salud de las personas, los animales o los ecosistemas.

Los investigadores que planifican usar un importante número de animales deberían, cuando sea posible, criar en cautividad los ejemplares de reemplazo en lugar de seguir expoliando al ambiente natural en forma permanente. Los animales para investigar deben ser introducidos en una institución solamente si el investigador que se propone utilizarlos haya demostrado un conocimiento adecuado de los requerimientos sociales y de comportamiento de los mismos y de otras especies estrechamente relacionadas. Este concepto es de suma importancia dado que contempla el impacto ambiental que genera la captura de los individuos en su medio natural.

Los responsables de tales estudios deben tener la capacidad de proveer el alojamiento y el manejo adecuados antes de su introducción en el laboratorio. Es por ello imprescindible el estudio previo de las características generales, su desarrollo natural y las interrelaciones tróficas de las especies propuestas para el estudio (CCAC, 1998a).

A continuación se resumen algunas de las características más relevantes de las especies propuestas en esta tesis.

## **4. 2. ARMADILLOS**

---

Los dasipódidos son animales de tamaño mediano a moderadamente grande, oscilan entre los 15 y 150 cm de longitud y 125 g a 60 kg (McNab, 1980; Wetzel, 1985) correspondiendo los valores extremos a *Chlamphorus truncatus* (pichi ciego) y *Priodontes maximus* (tatú carreta), respectivamente.

Según las regiones los armadillos son también conocidos por diferentes nombres vulgares, adoptados en general de antiguas voces indígenas, como:

- |               |                  |                |
|---------------|------------------|----------------|
| • ayotochtli, | • mulita,        | • pichi,       |
| • ayotoste,   | • ocarro         | • pirca,       |
| • cachicamo   | • peludo,        | • quirquincho, |
| (cachicame),  | • peludo andino, | • tatú         |
| • cusuco,     | • piche,         | • tatú – eté   |
| • gurre,      | • piche bola,    | • toche        |
| • mataco,     | • piche llorón,  |                |

entre otros (Yepes, 1928; Cabrera y Yepes, 1940; Crespo, 1944; Young, 1977; Wilson y Reeder, 2005).

Estos Armadillos (Dasipódidos), representantes del grupo Xenarthra, son de hábitos terrestres, plantígrados, unguiculados, poseen extremidades cortas y robustas, provistas de uñas muy desarrolladas, están adaptados a los hábitos cavícolas (Cabrera y Yepes, 1940; Walker, 1968; Matthews, 1971; Cabrera, 1973). Pie y mano pentadáctilo; mano con dos o tres dedos más desarrollados según la especie, el tercero casi siempre predominante; uñas muy desarrolladas que emplean para cavar. Cola corta a mediana.

Presentan como rasgo distintivo, típicas apófisis accesorias (cigapófisis) en las vértebras dorsales y lumbares<sup>1</sup>. Esto determina la presencia de una, dos ó tres pares de facetas articulares suplementarias en las caras anterior y posterior de las respectivas vértebras. Estas xenartrosis permiten encuadrarlos filogenéticamente junto a los perezosos (Orden: *Folidota*) y los osos hormigueros (Orden: *Vermilingua*).

Las articulaciones isquiáticas (también las del ilion) con la columna vertebral otorgan al extremo posterior de la misma una rigidez inusual (Frechkop y Yepes, 1949; Frechkop, 1950). Estas características a las que debe agregarse la presencia de poderosos miembros posteriores, permiten al grupo adoptar la posición erecta, sobre un “trípode”

---

<sup>1</sup> De ahí el nombre de xenartros o “animales de articulaciones extrañas”.

constituido por los miembros posteriores y la cola (Wetzel, 1982). Es común observarlos en el laboratorio, en dicha posición, explorando el ambiente por medio del olfateo.

Los caracteriza un caparazón de origen conjuntivo formado por un mosaico de pequeñas placas dérmicas yuxtapuestas más o menos aplanadas, córneas y óseas, derivadas de los oscículos dérmicos. Existe un escudete cefálico y la cola está recubierta por placas anilladas; pequeñas placas protegen, además, las partes expuestas de los miembros. Bandas móviles en un número variable (entre 3 y 30) cubren parcialmente el dorso del cuerpo y se ubican entre dos conjuntos de placas o bandas fijas ente sí. Estas últimas conforman los escudos escapular y pelviano. Dichas bandas y la convexidad adecuada de los escudos, permiten al animal mover y doblar el cuerpo evitando la rigidez del caparazón a nivel medio-dorsal. La nariz puede ser corta o larga dependiendo de la especie. Piel resistente con pelaje relativamente largo, duro y generalmente ralo, revistiendo las partes blandas. En el caparazón los pelos son cerdosos y comúnmente escaso, excepto en el pichi ciego que son suaves y sedosos. Al nacer están cubiertos por una piel suave corácea que, posteriormente, conformará el caparazón (Wilson y Reeder, 2005). Estas bandas móviles les permite dormir arrollados sobre sí mismos con la nariz entre los miembros posteriores.

Otra característica distintiva de este grupo es la presencia de *oscículos dérmicos* en la piel<sup>2</sup>, constituyéndose en una prueba importante de la unidad filogénica del grupo.

Presentan, también, un pequeño hueso nareal, característica netamente reptiliano, que en los mamíferos solo se encuentra en este grupo (Grassè, 1955). La gran fuerza muscular de sus patas se debe a la suma de dos factores: los músculos se insertan en huesos un tanto aplanados y el olécranon y el calcáneo son alargados. La tibia y el peroné están fusionados distal y proximalmente y el fémur tiene un poderoso tercer trocánter (Vaughan, 1972).

Se caracterizan por una fuerte regresión dentaria, con una tendencia marcada al monofiodentismo y a la homodoncia. Los dientes son estructuras cilíndricas simples y uniformes, sin esmalte y con raíces abiertas y crecimiento continuo. Los incisivos y caninos están ausentes, y premolares y molares son tubulares (Grassè, 1955; Silva Sasso y Della Serra, 1965; Cabrera, 1973). Los dientes no presentan esmalte en los adultos. Su número es muy elevado, hasta 25 en cada mandíbula.

Las hembras poseen, dos o cuatro mamas, en general pectorales. Presentan una hendidura urogenital que sirve como vagina y uretra terminal (Walker, 1968; Storrs, 1971).

---

<sup>2</sup> Este rasgo, típico de los armadillos y gliptodontes, se demostró en algunos perezosos fósiles (Engelmann, 1985).

En los machos el pene es relativamente largo y retráctil en una bolsa prepucial (**Figura 4.1**). Los testículos son intrabdominales y se ubican en el pliegue del peritoneo (Wislocki, 1933; Walker, 1968).



**Figura 4.1.**

Este animal tiene un pene muy largo que presenta fenómenos notables durante la vigilia, el sueño lento y el sueño paradójico. Durante la vigilia permanece retraído dentro de un pliegue de piel (bolsa prepucial).sigue siendo retiradas en un recipiente de piel. Durante el sueño lento se puede observar la protrusión del pene, con movimientos muy complejos (**A**). Esta protrusión es de una característica no eréctil y el pene se mantiene fuera de su receptáculo, pero sin rigidez. La erección del pene sólo se observan durante el sueño lento (**B**). En contraste con otros mamíferos, no se producen las erecciones durante el sueño paradójico. En esta etapa, los músculos del pene comparten la atonía de los músculos esqueléticos característica de esta fase (Affanni et al., 2001).

Con respecto a la distribución actual del grupo, McNab (1980) considera que existiría cierta relación entre el tamaño corporal y las características climáticas, dado que las especies de mayor tamaño corporal (*Priodontes sp.*, *Cabassous sp.*, *Eupharctus sp.*) son estrictamente tropicales (Wetzel, 1985).

Los adultos de la especie *C. villosus* (peludo) miden alrededor de 50 cm de largo distribuido de la siguiente forma: la cabeza, 9 cm; el caparazón del tronco, 26 cm y la cola, 15 cm. Son levemente aplanados en sentido dorso-ventral. Las placas de la coraza son facetadas. Los ápices de los escudos marginales levemente redondeados. Presentan de 6 a 8 (comúnmente 8) bandas móviles. El borde externo del caparazón posee placas triangulares en forma de dientes, que le dan un aspecto aserrado. Escudete cefálico triangular, con diámetro transversal mayor que el longitudinal (típico del género) Tiene una banda móvil completa sobre el margen anterior de caparazón escapular. Presenta un arco zigomático corto, aplanado transversalmente. Las orejas son medianas y se ubican lateralmente. Las placas marginales del escudo pelviano forman una curva cóncava apenas susceptible, y la escotadura caudal es sinusoidal, con sus placas marginales romas.

Dorsalmente, en el caparazón pélvico, Presentan dos o cuatro aberturas medio-dorsales, correspondientes a la llamada glándula pelviana, cuya secreción amarillenta posee un olor característico. La función de dichos humores es aún objeto de estudio ya que no es del todo conocida. Se puede observar la aparición de secreción en situaciones de estrés, pero se sugiere que también actuaría como feromona o participaría en la respuesta de defensa (Pocock, 1913; Fernández, 1922; Estecondo, 1995).

Poseen pelos cerdosos largos, en número de 2 a 12 por placa, hasta 14 ó 15 en las correspondientes a los bordes de las bandas móviles implantadas en el borde posterior de las placas. Estas mismas cerdas fuertes, cubren también la superficie ventral, partiendo de verrugas óseas implantadas en la piel; la cola y las patas están también cubiertas de estas sedas, siendo ahí donde se encuentran las más largas. Son muy activos, poderosos cavadores, son capaces de construir cuevas con múltiples galerías. Los miembros son pentadáctilos. Las uñas de los posteriores difieren mucho en tamaño; en los anteriores, en cambio, la uña más larga corresponde al tercer dedo. (Yepes, 1928; Crespo, 1944).

Según cita Yepes (1943) los armadillos tienen una temperatura corporal que puede variar entre los 30°C y los 36°C según las diferentes especies. Se los suelen denominar **homeotermos imperfectos** o **incompletos** a causa de que su temperatura corporal varía hasta cierto grado en función de la temperatura externa. Diferentes especies estudiadas muestran una importante pérdida de calor en su cuerpo cuando se encuentran en ambientes muy fríos, tanto en la naturaleza como en laboratorio. Pueden aumentar la temperatura corporal aún cuando la temperatura ambiente permanezca baja (Roig, 1969; Roig, 1971; Roig y Henriquez, 1984). La temperatura corporal de varias especies de armadillos cambian de 32.5° a 37° C cuando la temperatura ambiente varía desde los 25° C a los 30° C. Esta capacidad de cambiar la temperatura corporal, es quizá una respuesta evolutiva a los grandes cambios de la temperatura durante el día y la noche o entre invierno y verano que tienen a lo largo de toda su área de distribución. (Wetzel, 1982; Wetzel, 1985). Además, las descripciones de Roig (1969 y 1971), Roig y Henriquez (1984) y Wetzel (1982 y 1985) sugieren que parte de su termorregulación también la ejercen en forma conductual ya sea con la posición de su cuerpo sobre el terreno o con su ubicación dentro de las cuevas.

Por otra parte, Abba (2008) propone la denominación de **heterotermos temporales** para el género *Chaetophractus*. Su propuesta se basa en que sus registros de la temperatura rectal permitieron encontrar relaciones significativas de la misma con la temperatura atmosférica, el peso, el comportamiento, los ectoparásitos, entre otros

aspectos. Sus observaciones sugieren que no regulan su temperatura corporal en un margen estrecho, siendo capaces de variar el grado de producción de calor endotérmico. Permiten que su temperatura corporal experimente fluctuaciones diarias, teniendo temperaturas “endotérmicas” mayores durante los períodos de actividad y menores durante el reposo.

Esto condice con las observaciones y conclusiones que Roig y Henriquez (1984) hicieron con anterioridad. Sus muestreos llevaron a proponer que el género *Chaetophractus* realiza la regulación de su temperatura corporal mediante un complejo mecanismo cavícola, conductual y quizás también alimentario, y resulta de una mayor eficiencia que en otras especies. Resaltan también algo realmente llamativo, como es el hecho de que, bajo determinadas circunstancias, posee un definido gradiente térmico que va desde una completa heterotermia a nivel periférico para hacerse más homeotermo en el centro de la masa corporal.

Para completar la información acerca de la conspicua regulación térmica de los Armadillos, se puede agregar el estudio anatómico realizado por Arruda y Arruda (1999) sobre el género *Dasybus*, en el mismo demuestra la existencia de un conjunto de vasos formados por la ramificación de la arteria sacral mediana, este conjunto ha sido considerado una *rete mirabile* que da origen a un sistema de contra-corriente que seguramente previene de la disipación de calor a través de la cola y, de esta manera, contribuye con los mecanismos del control de la temperatura corporal del armadillo.

Estas consideraciones acerca de la termorregulación resultarán muy importantes cuando se describan, en los respectivos capítulos, los sistemas de alojamiento y la administración de fármacos para inmovilización y anestesia.

Los *Chaetophractus* son de hábitos nocturnos o crepusculares, durante el día suelen permanecer en sus madrigueras excavadas en la tierra, según la especie a mediana profundidad o formando importantes galerías. Son carnívoros-omnívoros, consumen carroña, huevos, restos vegetales (frutos, rices, semillas) y pequeños vertebrados. Son a la vez insectívoros ingiriendo gran cantidad de coleópteros, tanto larvas como adultos (Young, 1977; Wilson y Reeder, 2005).

El *Chaetophractus vellerosus* es una especie muy similar al *C. villosus* pero de mucho menor tamaño. Las orejas son proporcionalmente más largas, sin llegar a la longitud del género *Dasybus*. Presenta un escudete cefálico marcadamente más triangular. El escudo pelviano es cerca del doble de longitud que el escapular. Posee entre 7 y 8 bandas móviles. Su cola es anillada como en *C. villosus*. También comparte con *C. villosus*

las características dentales y podales. Su cuerpo con la cabeza alcanza hasta 40 cm de longitud y la cola 12 cm.

Como todos los miembros del género *Chaetophractus* tienen más pelo que los demás armadillos.

Su alimentación incluye invertebrados, pequeños vertebrados, huevos, frutas, tubérculos y hongos. Cavan cuevas de menor complejidad y profundidad que su congénere *C. villosus*.

Es un animal muy irascible y tan pronto como es capturado emite un sonido agudo que se asemeja al “llanto desesperado de un niño”, de aquí su nombre vulgar: piche llorón. Esta conducta le sirve a modo de mecanismo de defensa, ya que sorprende a su captor y le da unos segundos de ventaja para huir y penetrar en su cueva o cavar una nueva (Yepes, 1928; Cabrera y Yepes, 1960; Walker, 1968).

Se sustenta la existencia de dos subespecies de *C. vellerosus*. Una confinada a las regiones norte del país, *C. vellerosus vellerosus* de mayor tamaño y otra, *C. vellerosus pannosus*, distribuida al sur, de menor tamaño (Abba, 2008)

La temporada de nacimientos de las especies en estudio se centraría durante la primavera y el verano. Luego de un período de gestación de 60 a 65 días, las hembras suele parir camadas de uno o dos individuos. El género *Dasypus* puede parir hasta doce crías y presenta gemelaridad constante en sus pariciones sin importar el número de crías (Chapman, 1901; Fernández, 1909; Galbreath, 1985). Nacen con los ojos cerrados y un peso de 135 g, duplicando el peso al cabo de la primer semana de vida (Casanave, 1989). Las crías son mantenidas en su madriguera hasta que llegan a la edad necesaria para valerse por sí solas. Durante ese tiempo, los pequeños son amamantados por su madre antes de enseñarle a alimentarse por sí mismos (Young, 1977; Wilson y Reeder, 2005; Abba, 2008). El número cromosómico diploide es  $2n = 60$  y el mecanismo cromosómico sexual es XX:XY (Benirschke y col., 1969). En cuanto a su longevidad, en cautividad llegaron a vivir 15 años (Walker, 1968).

En las algunas naciones andinas, el caparazón del armadillo era utilizado para construir un instrumento musical llamado charango, semejante a una guitarra pero de reducidas dimensiones, compuesto de cinco órdenes de cuerdas que producen un sonido muy agudo. La carne sirve para consumo humano y dado su sabor es conocido como el “siete carnes”, pues se asemeja a la de pollo, conejo, o cerdo. En algunas zonas se suelen deshuesar el animal y preparar la carne dentro del caparazón para consumirla asada, frita o en guiso (Young, 1977; Wilson y Reeder 2005).

*Armadillos y Zarigüeyas como Modelos Experimentales en la Investigación Biomédica:  
Contribuciones a la Generalización de su Uso*

Si bien las especies consideradas en este trabajo son considerados vulgarmente “plaga” para la actividad agropecuaria por los destrozos que produce en los campos cultivados, en los establecimientos avícolas y granjas, y por los pozos en los campos de cría vacuna, no integran las lista de animales en peligro de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza y los Recursos Naturales (IUCN). Por otro lado desempeñan un papel beneficioso para la agricultura removiendo y aireando los campos con sus excavaciones y consumiendo pequeños roedores, larvas e insectos perjudiciales para los cultivos (Martin y col. 2001; Feldhamer, 2003).

### 4. 3. ZARIGÜEYAS

---

El género *Didelphis* es conocido con diferentes nombres vulgares, según las diversas zonas geográficas de América. Por lo general adopta denominaciones provenientes de vocablos indígenas de las diferentes etnias que poblaron y pueblan el continente. Algunas denominaciones son (cabrera y yepes, 1940; Wilson y Reeder, 2005):

- Carachupa
- Comadreja overa
- Chucha común
- Churcha
- Gambá
- Intuto
- Jujube
- Mbicuré
- Mbicuré eté
- Mbicuré-hu
- Micuré
- Muca
- Mucura
- Mu-curé
- Opossum
- Pelón
- Pian
- Rabipelado
- Raposa
- Sariga
- Sarigüé
- Sarigüeia
- Tacuazin
- Ux
- Yalu
- Zarigüeya overa
- Zorra mochilera
- Zorrachucha
- Zorro común

Lo mismo sucede con el género *Lutreolina* (cabrera y yepes, 1940; Wilson y Reeder, 2005):

- Coligrueso
- Comadreja colorada
- Gambá
- Mbicuré
- Mbicuré-pita
- Red opossum
- Zarigüeya colorada

Los miembros del género *Didelphis* son animales de mediano tamaño con marcado dimorfismo sexual, pudiendo los machos alcanzar el doble de peso que las hembras. Pueden medir de 30 a 50 cm, la cola puede medir de 25 a 45 cm, con un largo total que no excede los 80 a 90 cm. El cuerpo de estos animales está cubierto por una capa de pelo largo áspero y desgredado de color variable (negro, gris, raramente blanco) bajo la cual existe otra de pelo blanco más corto y denso, característica ésta común al género y diferenciadora de otros didélfidos en los que no existe o es muy escasa. Como en la mayor parte de los cuadrúpedos, las regiones ventrales son de tonos más claros, blancos o cremosos.

La cabeza es relativamente grande, con el hocico acuminado provisto de largas fimbrias (vibrisas) extremadamente sensibles al tacto. Las orejas son desnudas y el color

varía de negro a blanquecino según las especies. La fórmula dental es: I 5/4, C 1/1, P 3/3, M 4/4 = 50 dientes. Todos los dientes detrás de los caninos son puntiagudos. Posee difiodoncia (recambio de diente residuo o “de leche” por permanente) sólo en el tercer molar. Los ojos son pequeños, bien separados y al iluminarlos por la noche producen un reflejo brillante de color entre rojizo y amarillento.

Las extremidades son negras, las manos y pies presentan cinco dedos con primer dedo semioponible que le permite asir ramas y otros objetos para trepar. La cola, con capacidad prensil es larga, de mayor longitud que el cuerpo. La base está cubierta de pelo, aunque va desnudándose hacia el extremo a la vez que se cubre de una piel escamosa. Es de color negro, aclarándose hacia la punta. Las hembras poseen un marsupio bien desarrollado en cuyo interior se disponen un número variable de pezones (no más de doce en total) formando un círculo, además de otro pezón en el centro del mismo. En estado silvestre suelen anidar en oquedades entre las ramas de los árboles. Emite un sonido sibilante con la boca abierta y mostrando los dientes cuando es arrinconada. El sonido se percibe como de origen faríngeo y húmedo (cabrera y yepes, 1940; Hunsaker, 1977; Walker, 1968; Vaughan y col. 1999; Martin y col. 2001; Feldhamer, 2003; Montero y Autino, 2004; Wilson y Reeder, 2005).

Las hembras poseen un útero doble. Los machos poseen un pene bífido postescrotal (Hunsaker, 1977). El periodo de gestación, como en todos los marsupiales, es corto, no soliendo superar las dos semanas. Al cabo de las mismas, nacen crías escasamente desarrolladas en las que llaman la atención las extremidades anteriores bien formadas y dotadas de uñas de sus dedos, imprescindibles para aferrarse a la piel del abdomen y poder llegar por sus propios medios al marsupio (cabrera y yepes, 1940; Walker, E. P. 1968; Vaughan y col. 1999; Martin y col. 2001; Feldhamer, 2003). Este estado de inmadurez ontogénica ha llevado a mencionar un estado larvario o semiembrionario de las crías recién nacidas (Grassè, 1980; Jurgelski Jr, 1971, 1976), con todas las controversias que estos términos pudieran acarrear. Hay discrepancia entre varios autores si todas las especies marsupiales americanas presentan el marsupio en forma permanente o sólo se hace evidente en la época reproductiva. Oportunamente será aclarado este punto en nuestras especies en estudio.

Son animales de hábitos nocturnos o crepusculares. Agresivos, huraños y solitarios, sólo se relacionan con otros congéneres durante la época de celo (macho-hembra) o la de cría (madre-hijos) (Vaughan y col. 1999; Martin y col. 2001; Feldhamer, 2003).

La temperatura corporal media de *D. virginiana* (opossum norteamericano) fue reportada como de 35° C, notablemente más baja que la de los mamíferos euterios (Higginbotham y Koon, 1955; McManus, 1969; Dills y Manganiello, 1973). Por nuestra parte, determinamos que la temperatura media de *D. albiventris* (zarigüeya sudamericana) es de 32° C, 3° C más baja que la de su congénere del norte (Golombek y col. 1991). Esta es una interesante diferencia que la aproxima a los marsupiales del hemisferio sur, incluyendo los australianos (Geiser, 1986). Dado que *D. albiventris* es de hábitos nocturnos, es esperable que posean un ritmo diario de temperatura, con las más elevadas por la noche. Observamos que esta característica la mantiene, aún adaptada a las condiciones de bioterio (Golombek y col., 1988; Golombek y col., 1991).

Tiene un olor muy particular, hediondo para muchos. Si son manoseados y se sienten agredidos defecan y riegan orina de un olor extremadamente desagradable, distribuyen este efluente torciendo su cola, para uno y otro lado. Un verdadero mecanismo de defensa. Se distribuyen en toda Sudamérica hasta el inicio de los límites patagónicos (Cabrera y Yepes, 1940; Walker, 1968; Wilson y Reeder, 2005).

Cuando es agredida trata de huir, pero cuando es perseguida y arrinconada generalmente se rebela, es agresiva y amenaza con su boca abierta. Embiste y muerde cuando es acorralada. Bajo situaciones muy estresantes o por traumatismos se “hace la muerta” (catatonia acinética), con esta apariencia, es difícil distinguirlos de los cuerpos verdaderamente muertos. Se hacen tan imperceptible los movimientos respiratorios y el choque cardíaco sobre el tórax relajado que sólo con un estudio de actividad eléctrica cerebral se podría detectar su estado de alerta (Vaughan y col., 1999; Martin y col., 2001; Feldhamer, 2003).

El género *Lutreolina* presenta una única especie: *L. crassicaudata*. Posee características diferentes al género *Didelphis*, son fundamentalmente terrestres (no arborícolas), mucho más rápida, ágil y escurridiza que su compañera de familia. Se la encuentra en zonas litorales, tanto en cursos como en espejos de agua, de cuyas riberas obtiene la mayor parte de sus alimentos. Son excelentes nadadoras.

Poseen un pelaje corto y tupido que va de un color amarillo-naranja hasta el marrón-rojizo.

Cuenta con un cuerpo alargado que mide entre 60 y 80 centímetros, de los cuales entre 30 y 35 pertenecen a su larga cola, bastante gruesa en su mitad inicial, característica que le ha dado uno de sus nombres comunes. El grosor de esta cola está relacionado con su estado nutricional general, actuando como un depósito de materia energética.

Su cabeza es pequeña, así como también sus orejas, que son redondeadas. Su pelaje varía mucho de coloración, pudiendo ser desde un claro amarillento hasta un pardo oscuro.

Su peso corporal ronda entre 0,6 y 1,5 kg. Los machos suelen ser de mayor tamaño que las hembras. Tiene también 50 dientes. Tienen un gran parecido exterior a los mustélidos europeos, es por esto que los españoles al llegar a Sudamérica las llamaron comadrejas, permaneciendo esta denominación vulgar hasta nuestros días, aunque son marsupiales (Cabrera y Yepes, 1940; Walker, 1968; Wilson y Reeder 2005).

Los marsupiales sudamericanos colonizan la mayor parte de los ecosistemas de la región neotropical, desde praderas y zonas arbustivas a jungla tropical, y desde el nivel del mar hasta los 3.000 metros de altitud (Hunsaker II, 1977; Contreras, 1983; Cerqueira, 1985). Por regla general son al menos parcialmente arborícolas, siendo, como ya se aclaró, el género *Didelphis* predominantemente arborícola. Esta zarigüeya tiene un andar torpe en el suelo, pero es sumamente hábil en los desplazamientos entre las ramas de los árboles, gracias a sus pulgares semioponibles y a su cola prensil (Cabrera y Yepes, 1960; Contreras, 1983). La vida arbórea no sólo le provee alimentación y defensa sino también alojamiento, ya suele anidar en las oquedades de los árboles, aunque también utilizan madrigueras abandonadas por otros animales (Cabrera y Yepes, 1960; Contreras, 1983; Sunquist y Eisenberg, 1993; Schweigmann, 1994).

Si bien son habitantes comunes de zonas selváticas o de montes, rurales o semirurales, la destrucción y/o invasión de sus territorios ha hecho que se conviertan en algunos casos en peridomiciliarias. Fue llamativo un hecho ocurrido en la década de 1990 en la zona norte del Gran Buenos Aires (Argentina). A lo largo de los municipios de Vicente López, San Isidro, San Fernando y Tigre se reactivó un ramal de tren abandonado por más de veinte años. Dicho ramal corre paralelo a la costa del Río de la Plata y en algunos casos a escasos 200 o 300 metros de distancia de la ribera; hoy esa costa está urbanizada y con terrenos ganados al río. En aquella época, los terrenos linderos a las vías habían sido ganados por una vegetación frondosa de grandes pastos y gran arboleda. En los alrededores se encontraban viviendas amplias con grandes terrenos a su alrededor. Al producirse el desmonte y limpieza de los terrenos ferroviarios, comenzaron a aparecer zarigüeyas overas en los árboles de los jardines de las viviendas vecinas en una cantidad asombrosa y con vida reproductiva por varios años, hasta que los perros domiciliarios y otras causas no estudiadas las hicieron desaparecer (Observaciones personales).

Cuando habitan zonas peridomiciliarias es común observar en altura, en las oquedades de los árboles, restos de bolsas plásticas de residuos colgando de sus nidos

(Schweigmann, 1994; Observaciones personales). Esto indica la fuente de alimentación a la que apelan y la utilización de este material no natural que suponemos mejora las características de termorregulación del nido.

El género *Lutreolina* es escasamente arborícola y habitante casi obligado de riberas (Vaughan y col., 1999; Martin y col., 2001; Feldhamer, 2003).

Se encuentran en un nivel intermedio de la cadena trófica por lo que su relación con otras especies animales depende notablemente de este hecho. Los grandes carnívoros y las rapaces nocturnas se encuentran entre sus predadores principales. Desde el punto de vista de sus hábitos alimentarios son tremendamente oportunistas, estos marsupiales se alimentan de gran cantidad de recursos tanto de origen animal como vegetal, si bien existen tendencias por determinados grupos de alimentos en función de la especie, la localización geográfica o la estación climática. Por regla general son buenos cazadores, pudiendo las especies de mayor envergadura tener entre sus presas animales más grandes. Pequeños mamíferos, aves, reptiles y anfibios se cuentan entre sus alimentos. Los insectos y otros artrópodos, lombrices, moluscos y otros invertebrados también forman parte de su dieta que complementan con productos vegetales como frutos o granos. Muchas de las especies tienen además hábitos carroñeros (Vaughan y col., 1999; Martin y col., 2001; Feldhamer, 2003).

Las zarigüeya han sido descriptos como muy tolerantes al ayuno prolongado, evidenciándose sus reservas en el grosor de la cola (Schweigmann, 1994). Por nuestra parte no hemos observado esta particularidad en *D. albiventris*, tanto en los ejemplares de la Colonia como en los recién llegados a cautividad, a pesar de las diferentes épocas estacionales de arribo. Sin embargo fue muy notoria esta característica en *L. crassicaudata*, tanto en los ejemplares de la Colonia como en los recién capturados. Las diferencias en el diámetro de la base de la cola eran muy llamativos, y aquellos animales que llegaban con colas muy delgadas, rápidamente se les engrosaba al recibir una alimentación constante.

Si bien no son abundantes los estudios anátomo-fisiológicos de *L. crassicaudata* y *D. albiventris*, además de los ya citados, merecen señalarse los trabajos de Delupi y col. (1997) y Santori y col. (2005).

En otro tiempo, ambas especies, fueron cazadas para el aprovechamiento de sus pieles, hoy devaluadas. En la actualidad, en muchas de las áreas por las que se distribuyen, el objetivo de la caza es para el aprovechamiento de su carne, de aspecto y sabor parecidos al pollo.

*Armadillos y Zarigüeyas como Modelos Experimentales en la Investigación Biomédica:  
Contribuciones a la Generalización de su Uso*

Algunas ejemplares no descartan acercarse a zonas pobladas, generalmente presionados por la agresión ambiental o la falta ocasional de alimento. Son especialmente perseguidas por los destrozos que ocasionan en las plantaciones y los criaderos avícolas y cunícolas. Sin embargo no pueden considerarse plaga y hay que tener en cuenta el gran beneficio que representan controlando las poblaciones de roedores y artrópodos, mucho más perjudiciales para la actividad agropecuaria que las propias zarigüeyas. Aunque no es conocido el estado de conservación de muchas de las especies vivas de los marsupiales americanos, el grupo que nos ocupan no está catalogado con riesgo ni peligro es extinción en el presente de acuerdo a informes de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza y los Recursos Naturales (IUCN) (Vaughan y col., 1999; Martin y col., 2001; Feldhamer, 2003).

## **Capítulo 5.**

### **Condiciones de alojamiento en Bioterio de Armadillos y Zarigüeyas.**

#### **5. 1. Introducción.**

El concepto de alojamiento ideal para los animales de experimentación ha ido variando a lo largo de los años.

Clásicamente se consideraba importante proveer un alojamiento adecuado para los animales de laboratorio, contemplando sólo apropiadas condiciones de higiene, fácil acceso al alimento y el agua, comodidad en la manipulación y el manejo y minimizar variables experimentales imprevistas. Más recientemente se ha prestado mayor atención a la reducción del estrés del animal, el mejoramiento de su bienestar individual y social y su adecuado comportamiento.

En resumen: una instalación para animales de laboratorio (Bioterio) debe facilitar la investigación mediante la disminución de variables experimentales imprevistas, mientras provee todos los requerimientos fisiológico, sociales y de comportamiento del animal (CCAC, 1998 a y b).

A continuación se repasan algunos conceptos que responden a las condiciones de los animales de laboratorio en forma general.

#### **5. 1. 1. ¿Qué se entiende por ambiente?**

Por dentro de la estructura edilicia o Bioterio, se considera ambiente todo aquello que se encuentra en contacto con los animales. El ambiente de los animales de laboratorio esta constituido por el microambiente y el macroambiente.

El macroambiente o encierro secundario está constituido por la habitación: tamaño, iluminación, temperatura, ventilación y humedad relativa, ausencia de ruido y polvo, entre otros (Olfert y col., 1998; Zuñiga y col., 2001; NIH, 2002).

El microambiente se considera el encierro primario del animal, determinado por el habitáculo o jaula y todo lo que en él se incorpora, como: lecho, agua, alimento, número de animales y objetos de enriquecimiento. Sus componentes deben satisfacer las necesidades fisiológicas, de conducta y las interacciones sociales entre individuos, así como el establecimiento de jerarquías dentro del encierro (Olfert y col., 1998; NIH, 2002).

Las características del macro y microambiente para cada especie y cepa de Animal de Laboratorio Tradicional se encuentran detalladamente definidas en las guías pertinentes de instituciones rectoras en el cuidado y uso de animales de experimentación como son:

- Canadian Council on Animal Care (CCAC),
- American Veterinary Medical Association (AVMA),
- Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (ILAR),
- European Federation of Laboratory Animal Science Associations (FELASA).

Suficiente evidencia experimental nos indica que modificaciones en las condiciones del ambiente pueden inducir cambios en los procesos metabólicos y fisiológicos o alteraciones en la susceptibilidad a enfermedades, así como también modificaciones comportamentales individuales y sociales. Ha sido demostrado que el ruido puede producir eosinopenia, aumento de las glándulas adrenales, disminución de la fertilidad, aumento de la presión sanguínea y canibalismo. Por otro lado, alteraciones en la intensidad lumínica o inadecuados periodos de luz-oscuridad pueden afectar la morfología, fisiología y conducta de los animales, como: problemas reproductivos, alteraciones en la ganancia de peso y en la ingestión de alimento (Loo y col., 2004; Meijer, 2006).

Por lo antedicho, es intención de este trabajo proponer las adecuadas condiciones macro y microambientales para las especies en estudio a fin de evitar las alteraciones fisiológicas, bioquímicas y comportamentales a las que estarían expuestos.

### **5. 1. 2. ¿A qué llamamos bienestar animal?**

Broom (1986) describe el bienestar animal como "el estado en el cual se encuentra un animal que trata de adaptarse a su ambiente". Blood y Studdert (1988) lo definen como "el mantenimiento de normas apropiadas de alojamiento, alimentación y cuidado general, más la prevención y el tratamiento de enfermedades...".

Fraser (1989) nota que el bienestar animal comprende "...ambos, el físico y el psicológico. Estos normalmente coexisten. El bienestar físico se manifiesta por un buen estado de salud. El bienestar psicológico se refleja, por su parte, en el bienestar del comportamiento. Este último es evidente en la presencia de comportamiento normal y la ausencia de comportamiento considerablemente anormal."

Y podríamos seguir dando definiciones y todas serían ajustadas a las necesidades, pero ninguna sería suficientemente abarcativa, ya que el concepto de bienestar animal no es un concepto único ni hay una definición que nos satisfaga a todos.

Por lo tanto creo que debiéramos descubrirnos todos juntos, los experimentadores sumados a los animales de experimentación, como seres vivos y sensibles y convenir en un concepto que precedió a las definiciones anteriores y apeló a nuestra condición vital y afectiva: **"Esto entonces es mi definición del bienestar animal: acordar a los animales la dignidad natural que merecen como seres vivos y sensible"** (Hollands, 1980)<sup>3</sup>.

### **5. 1. 3. ¿A qué llamamos enriquecimiento ambiental?**

El hecho de agregar diversos elementos a su ambiente puede o no resultar en un incremento de los costos de la actividad; sin embargo, con frecuencia hay notables beneficios inmediatos para el animal, para el investigador y para el desarrollo de la investigación. A estos dispositivos adicionados a las condiciones tradicionales de mantenimiento se los ha denominado: elementos de enriquecimiento (CCAC, 1998 a y b).

El enriquecimiento ambiental y el empobrecimiento ambientales son términos relativos, sobre todo en lo referido a Animales de Laboratorio No Tradicionales. Podemos medirlo con referencia al medio ambiente que tienen los animales de laboratorio tradicionales o al ambiente de su contraparte silvestre.

Sin dudas el ambiente de laboratorio es claramente menos complicado que el del medio silvestre. Sin embargo, en algunos aspectos, para los animales de hábitos cavícolas, los estímulos auditivos y visuales en el laboratorio resultarán más complejos. Aunque, como contrapartida, la administración de alimento en abundancia durante todo el año, y la situación de protección conespecífica y de predación que tienen en condiciones de laboratorio, determinan sin duda situaciones menos agotadoras reflejadas en la salud y la expectativa de vida (AWIC, 1995).

El enriquecimiento ambiental está definido por Beaver (1989) como "elementos adicionales al ambiente de un animal con los cuales puede interactuar."

Asimismo, no sólo objetos componen el universo del enriquecimiento ambiental. También el contacto con sus congéneres en las primeras etapas del desarrollo determinará su calidad de vida futura. No todos los animales experimentación son sujetos sociables, por lo que su conocimiento previo al respecto beneficiaría el trato con sus congéneres y/o con el humano.

Es innegable que las experiencias sociabilizadoras de un animal durante sus fases de desarrollo determinan su comportamiento social. Por lo tanto, las condiciones de alojamiento de un animal en una instalación de crianza tendrán un impacto sobre su

---

<sup>3</sup> El subrayado es aporte del que suscribe.

bienestar futuro. Y todo ello resultará, inevitablemente, en la confiabilidad del resultado experimental.

Son escasas las publicaciones realizadas en esta área en especies no tradicionales. Resaltan entre ellos los trabajos en hurones. Estudios efectuados con dichos mustélidos (Korhonen y col., 1990; Korhonen y Harri, 1992) establecen que la buena sociabilización de los animales en etapas tempranas de su vida resultaba en una superior calidad de su pelaje, mejor ganancia de peso, alto desempeño reproductivo. Todo este desarrollo investigativo se realizó por analogía con estudios en ratas, donde el empobrecimiento ambiental resultó en alteraciones en la interacción social, el comportamiento sexual, el aprendizaje, la tolerancia a las drogas, la actividad y el tamaño del cuerpo (Potegal y Einon, 1989; Einon y Potegal, 1991).

De todo esto se desprende que la verificación de las necesidades sociales de los animales usados en la investigación deberá tener la misma importancia que los factores ambientales tales como la iluminación, la calefacción, la ventilación y el microambiente tan bien contemplados en toda bibliografía al respecto.

En los animales alojados individualmente, por razones conductuales o de diseño experimental, deberán contar con la visita y observación diaria por parte del operador o del investigador, lo que proporcionará una forma alternativa de contacto social para el animal, y normalmente facilitará las manipulaciones, ya que se ha acostumbrado a la presencia del humano (CCAC, 1998 a y b).

Del mismo modo, el uso de dispositivos artificiales o de elementos que signifiquen un acercamiento a su condición natural pretérita, tendrán efectos estimulantes sobre los animales silvestres utilizados en experimentación

La presencia permanente de estos principios éticos, sanitarios y de bioseguridad referidos al bienestar animal intentará regir el desarrollo del presente trabajo.

## 5. 2. ARMADILLOS

---

Existen variadas razones para encarar la crianza de especies silvestres bajo condiciones de cautividad. Una de ellas es la utilización de las mismas como modelos experimentales para diversas investigaciones biológicas, como en este caso.

El mejoramiento de los sistemas de cría y mantenimiento de estas especies hace que se los considere Animales de Laboratorio No Tradicionales. A este grupo pertenecen los Armadillo.

Es notable y llamativo que existiendo una sola especie de este grupo en América del Norte, sea los EE.UU. el país con mayor cantidad de trabajos de investigación publicados respecto a las más diversas áreas biológicas y biomédicas que involucran a estos *Dasipódidos*. Esta peculiaridad denota un aparente descuido y desinterés por parte del cuerpo científico del resto de las Américas por la diversidad de Armadillos que posee en su territorio.

La mayor parte de la bibliografía acerca de los estudios y técnicas de crianza en cautividad de Armadillos se refieren al género *Dasybus*. Son varios los autores que postulan diferentes métodos de alojamiento y mantenimiento en cautividad de dicho género (Anderson y Benirschke, 1966; Wampler, 1969; Blair Jr, 1970; García de Osma, 1972; Gilbert y Giacometti, 1972; Storrs y Greer, 1973; Baliña y col., 1980). La mayor parte utiliza jaulas amplias de mampostería (semejante a piletones) de aproximadamente 1 a 1,5 m<sup>2</sup> donde alojan varios ejemplares, estos receptáculos llegan a ser, en algunas oportunidades, de 24 m<sup>2</sup>. En el piso le colocan distintos tipos de material absorbente como papel corrugado, viruta de madera, aserrín de madera, tierra o pasto. Algunos instalan en las jaulas de menor tamaño paredes o paneles removibles, dispositivos que permiten dividirlos oportunamente y aislar pequeños grupos animales. Estos complejos de pequeños corrales se encuentran dentro de grandes salas o sólo cubiertas con un tinglado y en contacto directo con el ambiente exterior.

También emplean jaulas individuales de madera, de plástico duro o de plástico de alto impacto, transportables. Otras metodologías contemplan el uso de jaulas de transporte de caninos, en algunos casos apilables, con pasto en el piso como material absorbente.

Los mismos autores proponen una alimentación a base de combinaciones de comestibles frescos como huevos, carne, leche, manzana y banana. También contemplan la administración de alimento balanceado para caninos, solo o mezclado con alguno de los alimentos frescos antes mencionados.

Las escasas referencias a las condiciones de mantenimiento de *Chaetophractus villosus* no difieren en gran medida a las del género *Dasypus*.

Con el fin de normalizar las condiciones de alojamiento de Armadillos con fines experimentales hemos desarrollado distintas estrategia para concretar el objetivo.

Como se dijo al principio, esta Tesis se divide en dos etapas, la primera se desarrolló en las instalaciones del Bioterio Central de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (UBA) y la segunda en la Facultad de Medicina de la Universidad de Morón. Las instalaciones del Bioterio Central de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (UBA) para alojar la Colonia de Armadillos (INEUCI – CONICET) fueron diseñadas especialmente para ello. Dicha infraestructura se describe a continuación.

### **5. 2. 1. Instalaciones propuestas para la cría de Armadillos en condiciones de Bioterio<sup>4</sup>.**

#### **1. Alojamiento**

Las instalaciones comprendían un sector especial y aislado del Bioterio Central de la Facultad de Ciencia Exactas y Naturales (UBA) y fueron diseñadas a partir del asesoramiento profesional de un grupo de miembros del mencionado Instituto, del que formaba parte el autor de la presente Tesis.

La estructura interna del bioterio constaba de un pasillo central que comunicaba a ambos lados con laboratorios, salas de servicios, salas de cría, salas de stock y jaulas de semicautividad, estas últimas comunican directamente con el ambiente exterior (**Figura 5.1. a y b.**).

Las características detalladas de estas salas se explicarán más adelante. Las mismas permitían alojar animales por diferentes especies y estados reproductivos.

Las especies allí alojadas fueron: *Chaetophractus villosus* (peludo), *Chaetophractus vellerosus* (piche llorón), *Tolypeutes mataco* (quirquincho o piche bola) y *Dasypus hybridus* (mulita pampeana), las dos primeras serán las estudiadas en esta Tesis.

Los ejemplares, alrededor de 400 *C. villosus* y 50 *C. vellerosus*, a lo largo de 5 años, han sido de edades, sexo y estado reproductivo variados dentro de la posible diversidad.

El pie de cría de *C. villosus* provino de los alrededores de las localidades de:

---

<sup>4</sup> Parte de la información presentada a continuación fue comunicada en forma de póster como: “Animales de laboratorio no tradicionales. Mantenimiento y reproducción en condiciones de bioterio del género *Chaetophractus* (*Xenarthra* = *Edentata*, *Dasypodidae*)”. Iodice y Affanni. 1988 b. VI Congr. Arg. de Cs. Veterinarias, Buenos Aires. Argentina

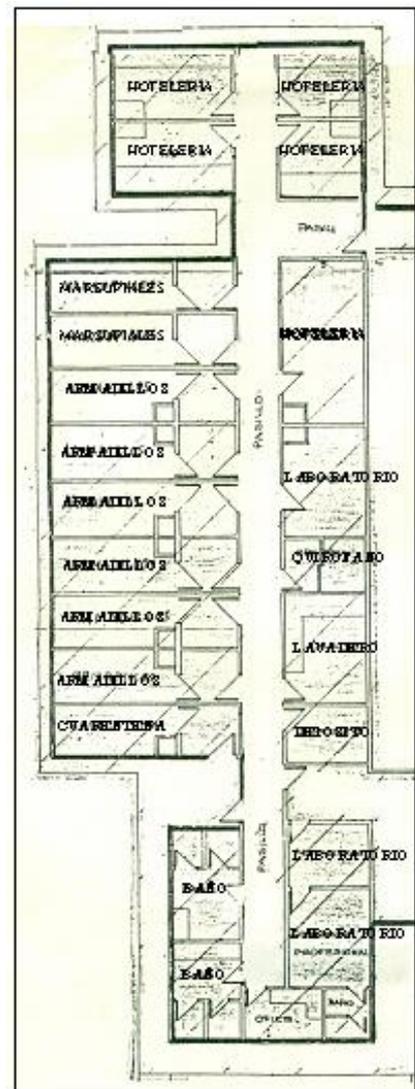
*Armadillos y Zarigüeyas como Modelos Experimentales en la Investigación Biomédica:  
Contribuciones a la Generalización de su Uso*

- Bahía Blanca, provincia de Buenos Aires, Argentina (38° 42'S // 62° 16'O).
- Balcarce, provincia de Buenos Aires, Argentina (37° 50'S // 58° 15'O).
- Coronel Brandsen, provincia de Buenos Aires, Argentina (35° 10'S // 58° 14'O).
- 9 de julio, provincia de Buenos Aires, Argentina (35° 27'S // 60° 53'O).



**Figura 5.1. a.**

Foto del exterior del bioterio donde se ven las Jaulas de Semicautividad en primer plano y Salas de Hotelería al fondo



**Figura 5.1. b.**

Plano en planta de las instalaciones del Bioterio de la Colonia de Armadillos del INEUCI (UBA – CONICET) del Bioterio central de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (UBA).

Puede observarse las Salas de Hotelería, las Jaulas de Semicautividad para Armadillos y Marsupiales, los Laboratorios, el Quirófano, el Depósito, el Lavadero y los Baños

En el caso de *C. vellerosus* el pie de cría era originario de zonas vecinas a la localidad de:

- Coronel Brandsen, provincia de Buenos Aires, Argentina (35° 10'S // 58° 14'O).

y luego, la mayor parte, provino de los apareamiento realizados en la Colonia, los cuales se describirán oportunamente.

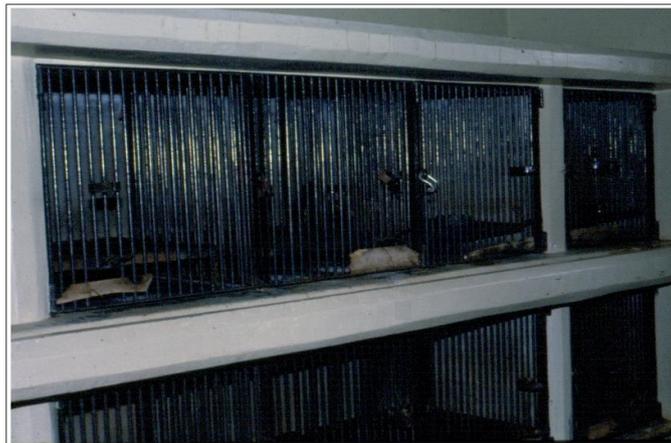
Los ejemplares fueron alojados de diferente forma según la especie, edad y estado reproductivo.

De todas ellas, las dos primeras (*C. villosus* y *C. vellerosus*) serán tratadas en el presente trabajo.

### **1. 1. Microambiente:**

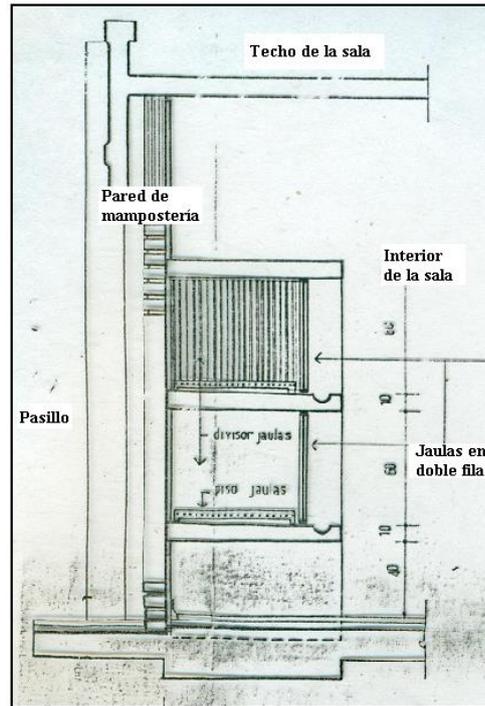
Los **peludos** (*C. villosus*) fueron alojados:

- a. En salas, dentro de jaulas de mampostería de 50 x 50 x 60 cm de ancho, profundidad y altura respectivamente, adosadas a las paredes en doble fila vertical. Poseían puertas y piso metálicos, éstos últimos sobreelevados para que los animales no tomen contacto con sus deyecciones (**Figura 5. 2. a y b.**).



**Figura 5. 2. a.**

Fotografía de las jaulas de mampostería en el interior de las Salas del Bioterio.



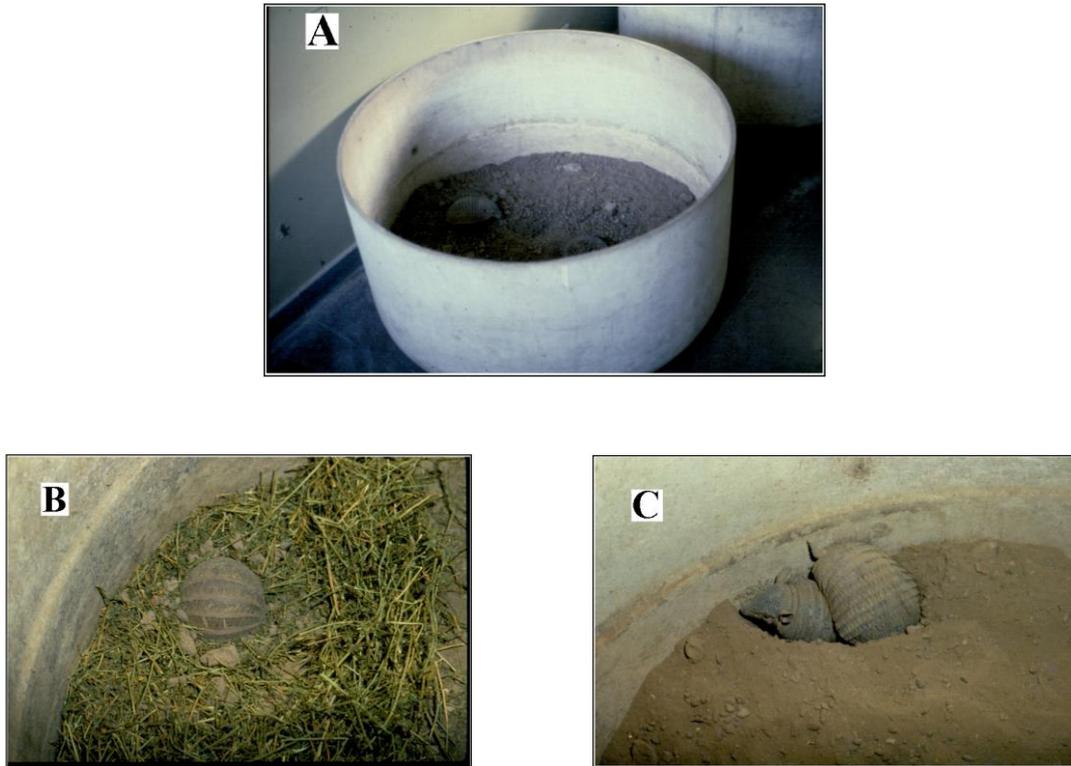
**Figura 5. 2. b.**

Plano de un corte lateral de las jaulas de mampostería de las Salas de Hotelería del Bioterio

b. Dentro de tanques circulares de cemento de 1,5 m de diámetro y 1 m de altura, con una delgada capa de viruta de madera en el piso a modo de material absorbente y de fácil remoción (**Figura 5. 3. a.**). Estos tanques podían oscurecerse adecuadamente según las necesidades experimentales. Dichos receptáculos de disponen en el interior de salas

Elementos de enriquecimiento fueron utilizados en este alojamiento. Se recurrió a la colocación de pasto seco y limpio para reemplazar a la viruta de madera. Este cambio pretendía asimilar las condiciones naturales de los sujetos en estudio. También se ensayó con tierra en lugar de la viruta de madera (**Fig. 5. 3. A. B. C.**).

Otro factor de enriquecimiento fue la colocación de cajas de madera o metal en forma acodada, sin tapa, en forma invertida y con un orificio de entrada en su lateral de menor longitud para permitir la entrada del animal. Estos dispositivos fueron usados como “cuevas” artificiales.

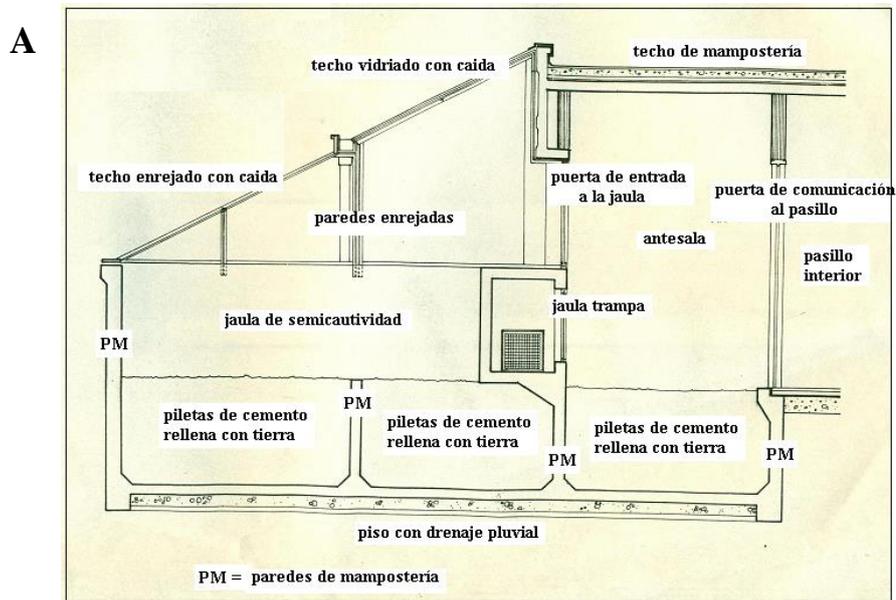


**Figura 5. 3.**

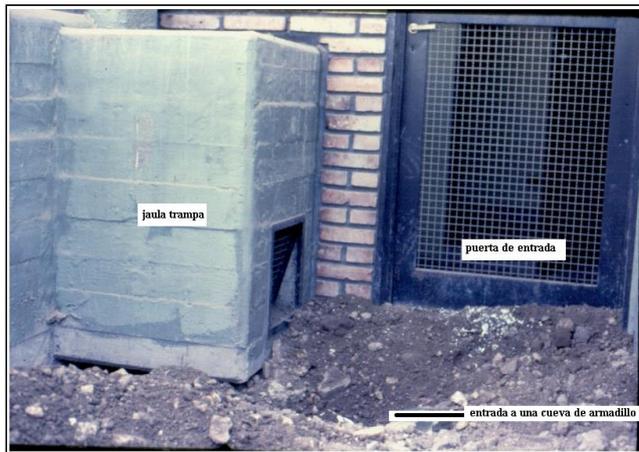
- A.** Fotografías de los tanques de cemento utilizados.  
Puede observarse los distintos tipos de elementos de enriquecimiento usados como sustrato.
- B.** Ejemplar de *Tolypeutes mataco* con pasto.
- C.** *Chaetophractus vellerosus* con tierra.

c. En jaulas de semicautividad de 2 m de ancho por 4 m de largo, con piso de tierra. Por debajo de la superficie tienen unas paredes y piso de mampostería a 1 m de profundidad, lo que determina una estructura estanca en forma de pileta subterránea. Esta tiene por objeto evitar que los animales salgan fuera de las instalaciones debido a sus hábitos cavícolas. Por sobre la superficie tiene una pared de mampostería de 1,1 m de altura, continuándose con una pared de alambre tejido hasta una altura de 3 m en la parte más baja y 1,5 m en la más alta. El techo también es de alambre tejido y presentaba una inclinación con pendiente hacia la parte externa del edificio. El mismo poseía una cobertura de vidrio en la mitad de su extensión para la protección e lluvias y otras inclemencias atmosféricas. Además poseía una jaula-trampa con puerta unidireccional para recapturar a los animales, ya que por sus hábitos nocturnos y cavícolas no están constantemente al alcance del operador (**Figura 5. 4. A., B. y C.**).

En estos recintos de tierra se colocaron plantas, piedras y restos de troncos, para que actuaran como factores de enriquecimiento en cautividad.



B



C



**Figura 5.4**

- A. Plano mostrando el corte de una de las salas de semicautividad.  
B. Fotografía de la entrada de una de las jaulas de semicautividad.  
C. Fotografía que muestra la entrada de una cueva construida por uno de los ejemplares de *C. villosus* alojado en una de las jaulas de semicautividad

Los **piches llorones** (*C. vellerosus*) fueron alojados en:

- a. En jaulas de mampostería dentro de salas en condiciones similares a *C. villosus* (Figura 5.6).

- b. Dentro de los tanques circulares de cemento ya descriptos para *C. villosus*. (ver **Fig. 5. 4. B.**)
- c. En compartimientos de cemento de 153 cm de largo, 90 cm de ancho y 43 cm de altura con tapas de alambre tejido. En su interior se colocaba una pequeña caja de madera o metal sin tapa de 30 cm de largo, 20 cm de ancho y 14 cm de altura con pasto, paja o viruta de madera en su interior, la que era acondicionada como habitáculo por el mismo animal. Estos compartimientos se encontraban dentro de las salas (se describirán más adelante en la sección de Zarigüeyas, **Fig. 5. 12. A.**).
- d. No se utilizó para esta especie las jaulas de semicautividad.



**Figura 5.6.**

Fotografía de una de las jaulas de cemento, dentro de las salas del Bioterio, utilizadas para alojar a ejemplares de *C. vellerosus*.

### **1. 2. Macroambiente:**

En las jaulas de semicautividad las condiciones de luz, humedad y temperatura fueron las mismas que en el ambiente exterior.

En las salas con jaulas o tanques, no hubo regulación lumínica ni de humedad. La luz, además de la artificial usada para las tareas de mantenimiento y experimentación, llegaba a través de ventanas convenientemente selladas para evitar el ingreso de animales y/o elementos extraños, por lo que se mantuvo un ciclo lumínico básicamente natural. Las

salas fueron calefaccionadas a temperatura de  $22 \pm 2$  °C durante los meses de invierno o de baja temperatura.

La ventilación de las salas se realizó mediante extractores de aire colocados a ras del piso y rejillas para entrada del aire ubicadas en la parte superior de la pared de las salas, en muros opuestos. Esta disposición de las bocas de entada y salida permite una adecuada renovación del aire interior sin formar circuitos aéreos viciosos ni suspensión de polvo en el ambiente. Los extractores estaban automatizados para funcionar treinta minutos cada cuatro horas.

## **2. Alimentación.**

En estado silvestre son carnívoros-omnívoros, consumen carroña, huevos, restos vegetales (frutos, raíces, semillas) y pequeños vertebrados. Son a la vez insectívoros ingiriendo gran cantidad de coleópteros, tanto larvas como adultos (Young, 1977; Wilson y Reeder, 2005).

Para ambos géneros, la alimentación en cautividad consistió, siguiendo anteriores experiencias de los primeros investigadores (Anderson y Benirschke, 1966; Merrit, Jr, 1973) en alimento balanceado premium para caninos. Se les administraba alrededor de 200 g. diarios en un comedero de estructura suficientemente resistente. Se utilizaron baldosas de vidrio redondas ahuecadas, de 15 cm de diámetro interior (**Figura 5. 7**).



**Figura 5. 7.**

Recipiente de vidrio utilizado para el alimento sólido y el agua para los ejemplares de *Chaetophractus*

En ocasiones especiales como estados fisiológicos de preñez o estados patológicos de subnutrición se ha completado la dieta con vitaminas liposolubles y/o semillas (maíz, trigo, girasol).

En las **Tablas 5. I** y **5. II** se detalla la composición general y porcentual, respectivamente, del alimento citado. El agua fue administrada *ad-libitum* en los recipientes de vidrio ya descriptos.

**Tabla 5. I.**

Composición general del alimento balanceado calidad premium utilizado.

Materia prima	Minerales	Vitaminas y elementos esenciales
<ul style="list-style-type: none"> <li>• harina de pollo,</li> <li>• harina de carne bovina,</li> <li>• grasa de pollo,</li> <li>• sebo 1<sup>er</sup> jugo bovino,</li> <li>• hidrolizado enzimático de pollo,</li> <li>• maíz,</li> <li>• arroz,</li> <li>• harina de soja,</li> <li>• germen de trigo</li> <li>• cebada</li> <li>• pulpa de achicoria y</li> <li>• extracto de yuca.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• cloruro de calcio,</li> <li>• óxido de zinc,</li> <li>• óxido manganoso,</li> <li>• sulfato ferroso,</li> <li>• <u>iodato</u> de calcio,</li> <li>• óxido de cobre y</li> <li>• selenito de sodio</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• A,</li> <li>• D3,</li> <li>• E,</li> <li>• K3,</li> <li>• B1, B6, B12,</li> <li>• <u>D-pantotenato</u> de calcio,</li> <li>• ácido nicotínico,</li> <li>• ácido fólico,</li> <li>• colina,</li> <li>• biotina,</li> <li>• lisina,</li> <li>• metionina y</li> <li>• antioxidante (BHT)</li> </ul>

**Tabla 5.II.**

Composición porcentual del alimento balanceado calidad premium utilizado.

Composición	Porcentaje
Humedad máxima	12 %
Proteína bruta mínima	27 - 30 %
Proteínas digestibles (mínimo)	17 %
Extracto etéreo mínimo	15 %
Fibra cruda máximo	2,8 - 3 %
Cenizas	9 %
Calcio	1,3 - 1,6 %
Fósforo	0,9 - 1,3 %
Energía metabolizable	4.100 - 4.200 Kcal/kg MS

### 3. Sanidad:

En el aspecto sanitario los animales recibieron tres tipos de tratamientos:

- a. Teniendo en cuenta que los animales habían padecido el estrés de la captura y posterior traslado y que procedían de un medio natural en el que se presentan diversos tipos de enfermedades, consideramos indispensable establecer desde su llegada a nuestro lugar de trabajo, un período de aislamiento estricto no menor de 30 días. Dicho período se cumplió en salas *ad-hoc* de los Bioterios, mantenidas con fotoperíodo, humedad, ventilación y temperaturas antes mencionadas. Durante este período se les realizaron controles clínicos

periódicos como revisión de piel y faneras, dinamismo, normofagia, nordipsia, eupnea, entre otros. También se le realizaron análisis coproparasitológicos. Para los mismos se utilizaron sustancias de enriquecimiento:

- Solución saturada de cloruro de sodio (solución de Willis) y
- Solución sobresaturada de azúcar (solución de Benbrook).

Los estudios se efectuaron por doble centrifugación a fin de investigar las muestras por el:

- Método de Flotación y
- Método de Sedimentación.

La técnica puede resumirse de la siguiente forma.

- Se recoge una porción de materia fecal y se la acondiciona con un medio fijador (formol al 5%) en un volumen diez veces mayor que la muestra y se homogeniza.
- Se filtra una porción colocándola en un tubo de ensayo, se centrifuga cinco minutos a 5000 rpm y se descarta el sobrenadante.
- Se completa con la solución de enriquecimiento elegida, se homogeniza y se vuelve a centrifugar.
- Se toma delicadamente una muestra del sobrenadante y se observa al microscopio (Método de Flotación).
- Se trasvasa el sobrenadante, se toma una muestra del precipitado y se observa al microscopio (Método de Sedimentación).

A través del estudio mediante el Método de Flotación se pueden observar los huevos de parásitos que posean cámara de aire y un peso específico menor a la solución de enriquecimiento (generalmente nematodos y coccidios). Mediante el estudio por el Método de Sedimentación se pueden ver los huevos de parásitos que no posean cámara de aire y un peso específico mayor a la solución de enriquecimiento (generalmente cestodes) (Borchert, 1964; Marek y Mócsy, 1973).

Los animales fueron tratados en forma preventiva con antiparasitarios externos e internos y antibióticos vitaminados para evitar las complicaciones secundarias al stress de cautiverio. Se utilizaron fármacos de uso comercial en el ámbito veterinario, no se usaron recetas magistrales. Se enumeran a continuación las características de los específicos y su administración:

*Armadillos y Zarigüeyas como Modelos Experimentales en la Investigación Biomédica:  
Contribuciones a la Generalización de su Uso*

- Los antiparasitarios externos estaban formulados a base de piretroides de muy baja toxicidad en mamíferos. Su administración se basó en las recomendaciones de los laboratorios de origen, que indicaban una frecuencia de 7 a 10 días en promedio.
- Los antiparasitarios internos utilizados fueron de administración parenteral (vía subcutánea) y estaban formulados en base a una combinación de imidazoles y praziquantel para abarcar el más amplio espectro posible de parásitos. Se les administraron dos dosis con un intervalo de dos semanas.
- Los antibiótico vitaminados fueron administrados en el agua de bebida y su formulación incluía tetraciclinas y vitaminas hidro y liposolubles. El período de administración fue de 7 a 10 días en forma continua según la necesidad.

Una vez finalizado el período de observación los animales pasan a formar parte de la colonia general.

- a. Los animales de la colonia general reciben desparasitaciones externas e internas estratégicas.
- b. Los animales nacidos en la colonia eran alojados en salas independientes del resto de los animales de la colonia y se les realizan controles clínicos y análisis coproparasitológicos periódicos. Sólo se les administró medicación en caso de ser preciso, de esta forma se evitaron tratamientos innecesarios y que pudieran interferir con usos experimentales posteriores.

#### **4. Manipulación:**

La manipulación de los armadillos es sumamente sencilla, sólo se recomienda el uso de guantes de goma protectores como prevención sanitaria y para evitar lesiones involuntarias causadas por las fuertes uñas que poseen.

Para contenciones más prolongadas o manipulaciones que requieran inmovilizar a los ejemplares se utilizan sedantes o anestésicos a bajas dosis. Las drogas utilizadas son de uso rutinario en la práctica veterinaria y se resumen en la **Tabla 5.III**.

**Tabla 5.III.**

Drogas utilizadas para la inmovilización química de los armadillos y marsupiales en estudio.

<b>DROGA</b>	<b>DOSIS</b>	<b>VIA DE INOCULACION</b>
<b>Acepromazina</b>	2 mg/Kg.	Intramuscular
<b>Clorhidrato de Ketamina</b>	25 – 30 mg/Kg.	Intramuscular
<b>Xilacina</b>	3 mg/Kg.	Intramuscular
<b>Acepromazina + C. de Ketamina</b>	2 mg/Kg. + 20 mg/Kg.	Intramuscular
<b>Xilacina + C. de Ketamina</b>	3 mg/Kg. + 20 mg/Kg.	Intramuscular

### **5. 2. 2. Resultados y consideraciones finales de esta sección.**

Las condiciones de alojamiento, alimentación y sanidad resultaron satisfactorias evidenciadas:

- en el aspecto exterior de los animales, evidenciado por la ausencia de alteraciones dérmicas notables y de enfermedades emergentes producto de una deficiente respuesta defensiva inespecífica,
- al no observarse signos clínicos exteriores de deficiencias nutritivas, basadas en las características de piel, pelo y faneras y mucosas aparentes,
- por la ausencia de muertes de dudosa etiología más allá de las ocurridas en el período de adaptación, y
- en los satisfactorios logros obtenidos en diversos procedimientos experimentales que luego serán detallados.

Las condiciones de alojamiento y alimentación también resultaron satisfactorias. Comparando las instalaciones propuestas con las descritas por otros autores (Anderson y Benirschke, 1966; Wampler, 1969; Blair Jr, 1970; García de Osma, 1972; Gilbert y Giacometti, 1972; Storrs y Greer, 1973; Baliña y col., 1980), se puede decir que las postuladas en este trabajo se acercan más a las condiciones de bioterio necesarias para la experimentación y obtener así un ambiente relativamente controlado y repetible.

La propuesta hecha aquí en función de mantener a los sujetos en condiciones individuales, permite un mejor control sanitario y experimental de los animales. No se observaron las patologías comportamentales debidas al grado de sociabilización reportadas por dichos autores.

La utilización de jaulas individuales con pisos sobreelevados redujo la aparición de lesiones podales referidas por los autores. Atribuibles estas, en gran medida, al contacto

directo con los materiales absorbente utilizados por ellos, y que mantienen una humedad que facilita el debilitamiento de la piel de los miembros y la proliferación de microorganismos como bacterias y hongos en las heridas consecuentes, con lo que fomenta la aparición de patologías oportunistas.

En ocasiones, los pisos metálicos han producido erosiones podales y caudales que también fueron tratadas con antisépticos y antibióticos locales con resultado rápido y satisfactorio.

Si bien algunos autores aclaran la sensibilidad de los animales a las bajas temperaturas, no se especifican si las salas descritas estaban calefaccionadas. En nuestro caso lo consideramos muy importante, por lo que se recomienda la calefacción de las salas en época invernal o de baja temperatura o, también, la disponibilidad de algún dispositivo especial que le sirva de cueva o madriguera y lo proteja de cualquier disconfor térmico.

Merece mencionarse aquí algunas observaciones acerca de la regulación térmica. Se observó que cuando la sala de alojamiento se encontraba calefaccionada por debajo de 23 °C, los ejemplares de *C. villosus* iniciaban el sueño en decúbito ventral. Mientras que cuando la temperatura superaba los 23 °C iniciaban el sueño en posición decúbito dorsal. Si en estas condiciones descendía la temperatura por debajo de los 23 °C, los animales iniciaban un temblor (movimientos musculares generalizados de temblor sin coordinación) y presentaban cierto sopor. Se pudo observar, que al seguir descendiendo la temperatura se despertaban y en algunos casos reiniciaban el sueño en decúbito ventral. Esta conducta sugiere una termorregulación conductual complementaria a la endógena (Coronel, 1985, comunicación personal). Estas observaciones concuerdan con las realizadas por Casanave y Affanni (1994) en nuestros laboratorios donde encontraron dos perfiles térmicos en el *C. villosus*: uno con una alta variación, principalmente debido al ciclo diario; el otro con baja variación, con no predominancia del ciclo diario. Hubo diferencias significativas entre las distintas horas del día, siendo las temperaturas por la mañana más bajas. La temperatura rectal varió entre  $35,1 \pm 0,4$  °C (9:00 h; temperatura ambiente 25,1 °C) y  $36,1 \pm 0,4$  °C (17:00 h, temperatura ambiente 26,0 °C)

Los comederos de vidrio resultaron más que satisfactorios por su dureza, resistencia y fácil sanitización. Se acostumbraron rápidamente a la nueva presentación del alimento. En el tópico de alimentación se ha hecho hincapié en la administración de vitaminas, sobre todo del grupo liposoluble, en ciertos estadios de los animales debido a la importancia de las mismas en diversos procesos metabólicos. Las vitaminas poseen cierta labilidad a las altas temperaturas (Bello Gutiérrez, 2000) que las deterioran o desnaturalizan en los

procesos de preparación, almacenaje y conservación de los piensos comerciales. Por esto es que su administración ha sido preventiva y en todos los casos utilizados se observaron respuestas clínicas satisfactorias evidenciadas en el aspecto general de los animales, el mejoramiento de las características de la piel y la recuperación rápida de peso y dinamismo.

Algunos animales llegados a la colonia presentaron lesiones superficiales producto de la captura o previas a ella. Las mismas fueron tratadas con soluciones antisépticas y aerosoles antibióticos en forma local con resultados satisfactorios.

Se han producido muertes en animales recién llegados a la Colonia durante el período de adaptación. En las necropsias las lesiones macroscópicas encontradas fueron intensas parasitosis y abscesos y lesiones superficiales infectadas en diversas partes el cuerpo, sobre todo en las bandas móviles, tan severas que no respondieron al tratamiento antedicho.

Algunos animales presentaron anorexia irreversible que los llevó a la muerte, con lesiones macroscópicas similares a las antedichas como hallazgo de necropsia.

Estimamos que las muertes de los animales durante el período de adaptación son producto de complicaciones magnificadas por la situación de estrés de cautiverio.

La mayor parte de las publicaciones sobre patologías de armadillos en libertad y cautiverio se refieren al género *Dasypus*, siendo notoriamente más escasos para el género *Chaetophractus*. Las comunicaciones de nuestro medio no son muy amplias en cuanto a patologías diferenciales por género y especie. Tampoco es clara la frecuencia de controles periódicos realizados para establecer la evolución de las patologías sufridas en cautividad.

Los estudios coproparasitológicos realizados por el autor sobre los animales de la Colonia sirvieron para identificar presencia de huevos de parásitos, pero no grado de infestación, ya que no fue un estudio cuantitativo. La solución de Benbrook resultó más confiable tanto para el Método de Flotación como para el de Sedimentación. La sola presencia de huevos sospechosos en los preparados ameritó la instauración de un tratamiento antiparasitario terapéutico.

La mayoría de los datos sobre endoparasitología en el género *Chaetophractus* son de muestreos realizados a campo (Boero, 1967; Lombardero, 1970; Navone y Lombardero, 1980; Martínez y Resoagli, 1982; Navone, 1983 a, 1986, 1987, 1988 a y b; Chabaud y col., 1983; Martínez, 1984 y 1988), y sobre hallazgos de necropsia. Esto hace muy difícil establecer una clave diagnóstica de huevos de endoparásito para ser utilizada en forma

preventiva para los animales en cautividad. La morfología de los huevos emitidos difiere en casi todos los casos con los observados en dichas publicaciones.

Se propone un trabajo de investigación parasitológica más exhaustivo realizando cultivo de larvas para correlacionar morfología de huevos con especie parásita de origen y presencia cuantitativa de la misma.

El tema de de las endoparasitosis merece una especial atención. Los resultados de campo informan el hallazgo de animales altamente parasitados pero sin evidencia de signos clínicos de deterioro notorio de su salud (Navone, 1983, comunicación personal). Sin embargo el traslado a las condiciones de cautividad en el Bioterio desequilibra ese estado, siendo este uno de los factores de mortalidad. Estas observaciones sugieren que, en el estado silvestre, la relación entre parásito y hospedador se encuentra en equilibrio (¿un particular “comensalismo”?), pero bajo condiciones de stress, en cautiverio, se transforma en un verdadero parasitismo.

Los elementos de enriquecimiento utilizados en el alojamiento de tanques resultaron con suerte diversa. La tierra utilizada fue un acierto reflejado en respuesta de los animales, dado que se encontraron con un elemento familiar, que si bien no presentaba una adecuada profundidad, les permitía generar oquedades que eran utilizadas como nido. Sin embargo exhibió deficiencias higiénicas y de remoción insalvables para nuestras posibilidades, además de la producción de notoria cantidad de polvo en el ambiente que atenta contra la higiene del lugar. El uso de pasto reflejó un estado intermedio, ya que, si bien no era su elemento habitual, fue aceptado y procesado favorablemente por los animales. Permitió además una remoción y procesamiento sanitario convenientes. No hallamos trastornos de impactación digestiva provocados por estos elementos, como refieren algunos de los autores anteriormente citados. En el caso de las cajas usadas como “cuevas”, fueron aceptadas y utilizadas por los animales con signos de habitualidad.

Los dispositivos de enriquecimiento colocados en las jaulas de semicautividad parecieron constituir un paisaje adecuado a los animales que se desplazaron por sobre y entre ellos con toda naturalidad. En estas jaulas lograron construir cuevas interconectadas con cierta complejidad, que sugieren la posibilidad de estudios más profundos acerca de sus hábitos cavícolas bajo estas condiciones de cautividad.

Estas últimas consideraciones, si bien están referidas a la eficiencia de los elementos de enriquecimiento, abren las puertas para estudios comportamentales bajo las condiciones de cautividad del bioterio.

### **5. 3. ZARIGÜEYAS**

---

Existen variadas razones para encarar la crianza de especies silvestres bajo condiciones de cautividad. Una de ellas es la utilización de las mismas como modelos experimentales para diversas investigaciones biológicas, como en este caso.

El mejoramiento de los sistemas de cría y mantenimiento de estas especies hace que se los considere Animales de Laboratorio No Tradicionales. Es este el caso de algunos marsupiales americanos como las zarigüeyas.

Es notable y llamativo que existiendo una sola especie de marsupial en América del Norte, sea los EE.UU. el país con mayor cantidad de trabajos de investigación publicados respecto a las más diversas áreas biológicas y biomédicas que involucran a las zarigüeyas (opossum para los norteamericanos). Esta peculiaridad denota un aparente descuido y desinterés por parte del cuerpo científico del resto de las Américas por la diversidad de Marsupiales que posee en su territorio.

Varios autores ya han resumido las particularidades y aplicaciones en la investigación de algunos marsupiales americanos (Moore y Bodian, 1940; Krupp y Quillin, 1964; Sherwood y col., 1969; Jurgelski, 1974 y 1979; Jurgelski y col., 1974; Jurgelski y Porter, 1974; Iodice, 1988).

En Brasil se ha adoptado a una especie de este grupo (*Didelphis marsupialis*) como modelo para el estudio del *Tripanosoma cruzi* (Deane y col., 1984). En nuestro país se ha estudiado y se están estudiando distintas especies de la familia *Didelphidae* para investigaciones neurobiológicas (Affanni y Morita, 1966; Affanni y col., 1967; Affanni, 1972; Cervino, 1997; Iodice y col., 1985; Jacob y Onelli, 1913; Scaravilli y col., 1974) y de psicología comparada (Mustaca y Haut., 1985; Papini, 1986; Papini y col., 1984).

En nuestro laboratorio existe una línea de trabajo tendiente adaptar a las condiciones de Bioterio a dos especies de marsupiales: *Didelphis albiventris* y *Lutreolina crassicaudata*.

El objetivo de esta parte del trabajo es la comunicación de los exitosos resultados del mantenimiento y la reproducción de estas especies.

La información ecofisiológica de *D. albiventris* es muy pobre comparada con su congénere del hemisferio norte: *D. virginiana*. Muchos de los datos son directamente extrapolados de estudios y observaciones realizados en ésta o de otra especie del mismo género como es *D. marsupialis* o gambá (muy abundante en Brasil). Pero hemos observado

que muchos de los comportamientos asignados, por otros autores, a *D. albiventris* en base a las observaciones en el opossum norteamericano no son ciertos para nuestra especie autóctona. Los datos sobre *L. crassicaudata* al respecto son prácticamente nulos.

Con el fin de normalizar las condiciones de alojamiento de Zarigüeyas con fines experimentales hemos desarrollado distintas estrategia para concretar el objetivo.

Como se dijo al principio, esta Tesis se divide en dos etapas, la primera se desarrolló en las instalaciones del Bioterio Central de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (UBA) y la segunda en la Facultad de Medicina de la Universidad de Morón. Las instalaciones del Bioterio Central de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (UBA) para alojar la Colonia de Zarigüeyas (INEUCI – CONICET) fueron diseñadas especialmente para ello. Dicha infraestructura se describe a continuación.

### **5. 3. 1. Instalaciones propuestas para la cría de Zarigüeyas en condiciones de Bioterio<sup>5</sup>.**

#### **1. Alojamiento.**

Las instalaciones comprendían un sector especial y aislado del Bioterio Central de la Facultad de Ciencia Exactas y Naturales (UBA), fueron diseñadas a partir del asesoramiento profesional de un grupo de miembros del mencionado Instituto, del cual formaba parte el autor de esta Tesis (**Figura 5.1**).

La estructura interna del bioterio constaba de un pasillo central que comunicaba a ambos lados con laboratorios, salas de servicios, salas de cría, salas de stock y jaulas de semicautividad, estas últimas comunican directamente con el ambiente exterior.

Las características detalladas de estas salas se explicarán más adelante. Las mismas permitían alojar animales por diferentes especies y estados reproductivos.

Las especies allí alojadas fueron: *D. albiventris*, *L. crassicaudata* y *Monodelphis dimidiata* (colicorto pampeano o comadrejín). Esta última por corto tiempo y sin desarrollo profundo de técnicas de crianza. Las dos primeras (*D. albiventris* y *L. crassicaudata*) serán tratadas en el presente trabajo.

Las especies estudiadas son denominadas vulgarmente zarigüeya overa o zarigüeya picaza y coligrueso o zarigüeya colorada respectivamente. No es correcta la de nominación

---

<sup>5</sup> Parte de la información presentada a continuación fue comunicada en forma de póster como: “Animales de laboratorio no tradicionales. Mantenimiento y reproducción en condiciones de bioterio de *Didelphis albiventris* y *Lutreolina crassicaudata* (Marsupialia, Didelphidae)”. Iodice y Affanni. 1988 a. VI Congr. Arg. de Cs. Veterinarias, Buenos Aires. Argentina.

común de comadreja ya que la misma corresponde a un mustélido europeo, que no sólo no es americano, sino que tampoco es marsupial, sino euterio.

Los individuos estudiados, alrededor de 500 de *D. albiventris* y 150 de *L. crassicaudata* a lo largo de 5 años, han sido de edades, sexo y estados reproductivos variados.

El pie de cría de *D. albiventris* provino de los alrededores de las localidades de:

- Coronel Brandsen, provincia de Buenos Aires, Argentina (35° 10'S // 58° 14'O).
- La Plata, provincia de Buenos Aires, Argentina (34° 59'S // 58° 03'O).
- 9 de julio, provincia de Buenos Aires, Argentina (35° 27'S // 60° 53'O).

En el caso de *L. crassicaudata* fueron de zonas vecinas a las localidades de:

- Ceres, provincia de Santa Fe, Argentina (29° 53' S // 61° 56'O).
- Rosario, provincia de Santa Fe, Argentina (32° 57'S // 60° 39'O).
- Sauce Viejo, provincia de Santa Fe, Argentina (31° 46' S // 60° 50'O).

y luego, la mayor parte, emanó de los apareamiento realizados en la Colonia, los cuales se describirán oportunamente.

Los animales fueron alojados en de diferente forma según la especie, edad y estado reproductivo.

### **1. 1. Microambiente:**

Las **zarigüeyas overas** (*D. albiventris*) adultas fueron colocadas:

- a. En salas, dentro de jaulas de mampostería, de 50 cm de ancho, 50 cm de profundidad y 60 cm de altura, adosadas a la pared de la sala en doble fila vertical (**Figura 5. 8.**). Tiene puertas y pisos metálicos, éstos últimos sobreelevados para que los animales no tomen contacto con sus deyecciones, tal como fueron descriptas en la sección de Armadillos (**ver Fig. 5. 4. b.**).
- b. En baterías de reproducción, diseñadas y construidas especialmente el autor (**Figura 5. 9.**). Son estructuras con esqueleto de hierro en ángulo y revestidas de alambre tejido. Sus medidas son 190, 45 y 70 cm de largo ancho y altura respectivamente, divididas en tres jaulas en línea comunicadas por una puerta tipo guillotina.

Cada una de éstas tiene una pequeña abertura en la parte inferior y lateral del frente para la oportuna colocación de cajones de madera colgados para que cumplan la función de nidos externos. La puerta de acceso está en la mitad

superior del frente y se abre hacia fuera pivoteando por su línea superior. Cada batería posee una bandeja de metálica por debajo para contener los rehechos. A una altura media se colocó un soporte de madera a lo ancho para que fuera utilizado por los animales para trepar, este fue el aporte como elemento de enriquecimiento al tipo de alojamiento. Estas baterías fueron dispuestas dentro de salas.



**Figura 5. 8.**

Fotografía de un ejemplar de *D. albiventris* dentro de una de las jaulas de mampostería en el interior de las salas del Bioterio.



**Figura 5. 9.**

Fotografía de las baterías de reproducción. Se puede observar la separación en tres jaulas independientes interconectadas por una puerta guillotina. Otras puertas guillotina en el frente para adosar el cajón para el nido

- c. En jaulas de semicautividad. Las mismas eran de 2 m de ancho y 4 m de largo, con piso de tierra y pasto natural (**Figura 5. 10.**). Las paredes eran de

mampostería hasta 1,1 m de altura y el resto de alambre tejido hasta una altura de 3 m en la parte más alta y 1,5 m en la más baja.

También el techo era de alambre tejido, poseía además una cubierta de vidrio en la mitad de su extensión y con una inclinación para el escurrimiento del agua de lluvia.

Dentro de éstos recintos se colocaban cajas cerradas de madera en el piso para ser utilizadas como nidos. Las mismas tenían un tamaño promedio de 40 x 30 x 25 cm de largo, ancho y altura respectivamente. En su lateral de mayor longitud presentaba una abertura por la que entraba el animal y el techo poseía una tapa rebatible para inspeccionar el nido.



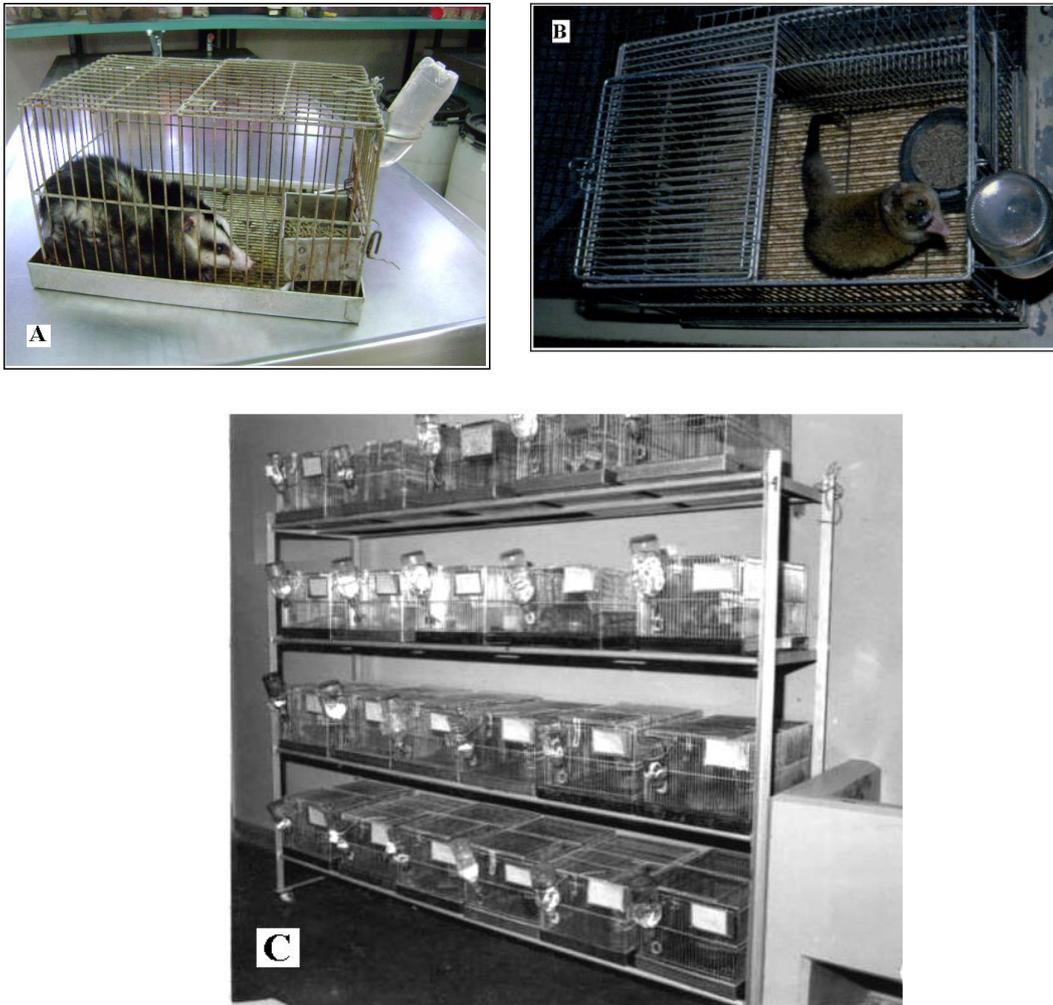
**Figura 5. 10.**

Fotografía de una de las jaulas de semicautividad.  
Pueden observarse los elementos de enriquecimiento

Como método de enriquecimiento se instalan troncos de madera interconectados con la intención de favorecer los hábitos arborícolas de esta especie.

- d.** Las crías destetadas y los animales juveniles fueron colocados en jaulas con barrotes de alambre como las usadas convencionalmente para cobayos. Sus medidas son 44 x 32 x 25 cm de largo, ancho y altura respectivamente. Tienen una bandeja inferior de acero inoxidable para contener las deyecciones. Poseen un comedero en forma de tolva en la mitad izquierda del frente y un bebedero

invertido estilo “mamadera” con un pico dosificador. La puerta ocupa la mitad de la cara superior. Estas jaulas son colocadas apiladas en varios niveles sobre bastidores móviles apropiados dentro de las salas (**Figura 5. 11. A. B. y C.**).



**Figura 5. 11.** Jaulas individuales.

- A.** Ejemplar de *D. albiventris* dentro de una jaula individual.
- B.** Ejemplar de *L. crassicaudata* dentro de una jaula individual.
- C.** Vista de una de las estanterías colocadas dentro de la sala en las que se ubican las jaulas individuales.

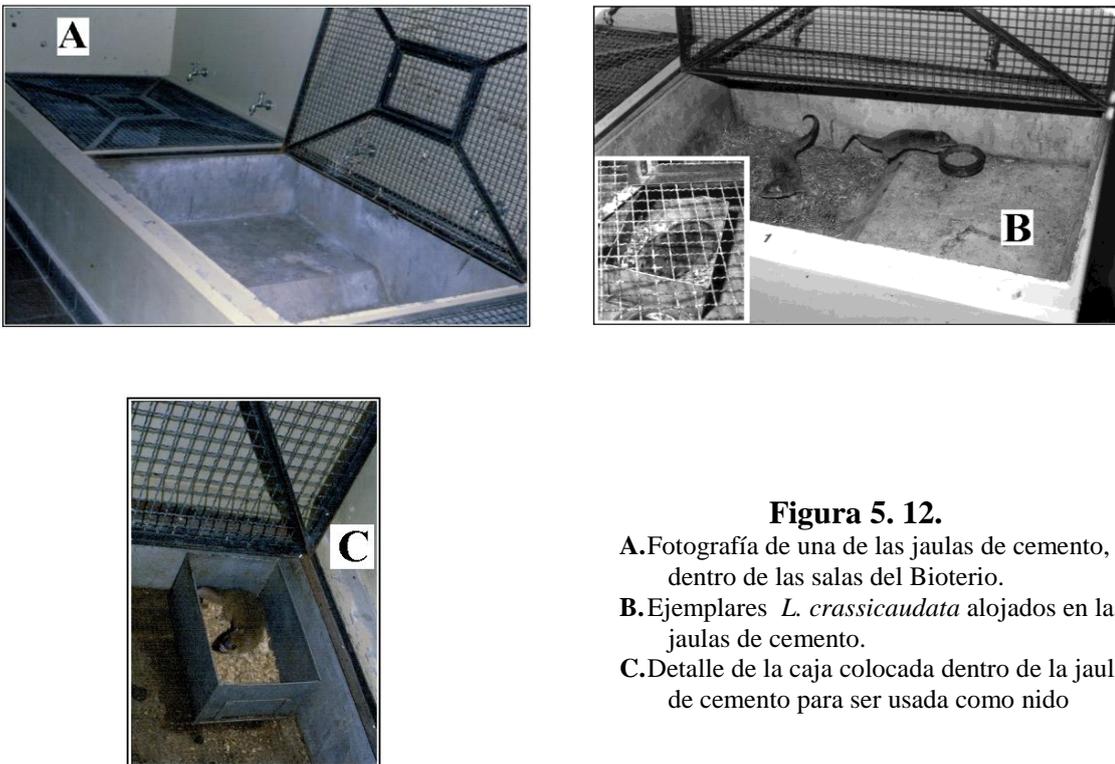
El alojamiento de las **zarigüeyas coloradas** ya ha sido descrito con detalle (Petersen y col., 1984; Iodice y col., 1986 a; Iodice y col., 2007). En forma resumida se puede detallar:

- a.** En jaulas individuales como las usadas convencionalmente para cobayos (**Figura 5. 11. A, B y C.**). Sus medidas son 44 x 32 x 25 cm de largo, ancho y altura respectivamente con las siguientes características: paredes laterales, piso

y techo de alambre galvanizado; puerta ubicada en la parte superior; dimensiones: largo 44 cm, ancho 32 cm y altura 25 cm, distancia entre barrotes de 1 cm. Tenían una bandeja de acero inoxidable en la que se colocó viruta de madera para recibir las deyecciones. Estas jaulas eran apoyadas en estanterías metálicas dentro de salas del Bioterio.

- b. En compartimientos de cemento de 153 cm de largo, 90 cm de ancho y 43 cm de altura con tapas de alambre tejido. En su interior se colocaba una pequeña caja de madera o metal sin tapa de 30 cm de largo, 20 cm de ancho y 14 cm de altura con pasto, paja o viruta de madera en su interior, la que era acondicionada como habitáculo por el mismo animal. Estos compartimientos se encontraban dentro de salas (**Figura 5. 12. A. B. C.**).

No fueron utilizadas para esta especie las jaulas de semicautividad.



**Figura 5. 12.**

- A. Fotografía de una de las jaulas de cemento, dentro de las salas del Bioterio.
- B. Ejemplares *L. crassicaudata* alojados en las jaulas de cemento.
- C. Detalle de la caja colocada dentro de la jaula de cemento para ser usada como nido

### **1.2. Macroambiente:**

En las jaulas de semicautividad las condiciones de luz, humedad y temperatura fueron las mismas que en el ambiente exterior.

En las salas no hubo regulación lumínica ni de humedad. La luz, además de la artificial usada para las tareas de mantenimiento y experimentación, llegaba a través de ventanas convenientemente selladas para evitar el ingreso de animales y/o elementos

extraños, por lo que se mantuvo un ciclo lumínico básicamente natural. Las salas fueron calefaccionadas para mantener una temperatura de  $22 \pm 2$  °C durante los meses de invierno o de baja temperatura.

La ventilación de las salas se realizó mediante extractores de aire colocados a ras del piso y rejillas para entrada del aire ubicadas en la parte superior de la pared de las salas, en muros opuestos. Esta disposición de las bocas de entrada y salida permiten una adecuada renovación del aire interior sin formar circuitos aéreos viciosos ni suspensión de polvo en el ambiente. Los extractores estaban automatizados para funcionar treinta minutos cada cuatro horas.

## **2. Alimentación.**

En estado silvestre ambos géneros son tremendamente oportunistas. Estos marsupiales se alimentan de gran cantidad de recursos tanto de origen animal como vegetal, si bien existen tendencias por determinados grupos de alimentos en función de la especie, la localización geográfica o la estación climática. Por regla general son buenos cazadores. Pequeños mamíferos, aves, reptiles y anfibios se cuentan entre sus alimentos. Los insectos y otros artrópodos, lombrices, moluscos y otros invertebrados también forman parte de su dieta que complementan con productos vegetales como frutos o granos. Muchas de las especies tienen además hábitos carroñeros (Vaughan y col., 1999; Martin y col., 2001; Feldhamer, 2003). Han sido descritos como muy tolerantes al ayuno prolongado (Schweigmann, 1994).

En condiciones de cautividad, hemos seguido el criterio adoptado por anteriores experiencias de primeros investigadores (Coghill, 1939; Jurgelski Jr, 1974; Jurgelski Jr y col., 1974; Jurgelski Jr y Porter, 1974). Hemos utilizado alimento balanceado premium para caninos. Se les administro entre 150 y 200 g diarios en comederos circulares de vidrio (resistentes y de fácil lavado) y en comederos tolva en las jaulas similares a las usadas para cobayos. En época reproductiva se ha suplementado con huevos frescos o desecados, leche entera y vitaminas liposolubles. El agua es administrada *ad-libitum* en los recipientes de vidrio antes mencionados o en botellas con pico de acero inoxidable colocadas en forma invertida como las utilizadas en colonias de ratas y ratones, los animales aprenden a beber de ellas con sorprendente facilidad.

En las **Tablas 5. I.** y **5. II.** se detalla la composición general y porcentual, respectivamente, del alimento citado.

### **3. Sanidad.**

En el aspecto sanitario, los animales de la colonia recibieron tres tipos de tratamientos:

1. Teniendo en cuenta que los animales habían padecido el estrés de la captura y posterior traslado y que procedían de un medio natural en el que se presentan diversos tipos de enfermedades, consideramos indispensable establecer desde su llegada a nuestro lugar de trabajo, un período de aislamiento estricto no menor de 30 días. Dicho período se cumplió en salas *ad-hoc* de los Bioterios, mantenidas con fotoperíodo, humedad ventilación y temperaturas antes mencionados. Durante este período les realizaron controles clínicos periódicos como revisión de piel, dinamismo, normofagia, nordipsia, eupnea, entre otros. También se le realizaron análisis coproparasitológicos. Para los mismos se utilizaron sustancias de enriquecimiento:

- Solución saturada de cloruro de sodio (solución de Willis) y
- Solución sobresaturada de azúcar (solución de Benbrook).

Los estudios se efectuaron por doble centrifugación a fin de investigar las muestras por el:

- Método de Flotación y
- Método de Sedimentación.

La técnica puede resumirse de la siguiente forma.

- Se recoge una porción de materia fecal y se la acondiciona con un medio fijador (formol al 5%) en un volumen diez veces mayor que la muestra y se homogeniza.
- Se filtra una porción colocándola en un tubo de ensayo, se centrifuga cinco minutos a 5000 rpm y se descarta el sobrenadante.
- Se completa con la solución de enriquecimiento elegida, se homogeniza y se vuelve a centrifugar.
- Se toma delicadamente una muestra del sobrenadante y se observa al microscopio (Método de Flotación).
- Se trasvasa el sobrenadante, se toma una muestra del precipitado y se observa al microscopio (Método de Sedimentación).

A través del estudio mediante el Método de Flotación se pueden observar los huevos de parásitos que posean cámara de aire y un peso específico menor a la solución de enriquecimiento (generalmente nematodos y coccidios). Mediante el estudio por el Método

de Sedimentación se pueden ver los huevos de parásitos que no posean cámara de aire y un peso específico mayor a la solución de enriquecimiento (generalmente cestodes) (Borchert, 1964; Marek y Mócsy, 1973).

Los animales fueron tratados en forma preventiva con antiparasitarios externos e internos y antibióticos vitaminados para evitar las complicaciones secundarias al stress de cautiverio. Se utilizaron fármacos de uso comercial en el ámbito veterinario, no se usaron recetas magistrales. Se enumeran a continuación las características de los específicos y su administración:

- Los antiparasitarios externos estaban formulados a base de piretroides de muy baja toxicidad en mamíferos. Su administración se basó en las recomendaciones de los laboratorios de origen, que indicaban una frecuencia de 7 a 10 días en promedio.
- Los antiparasitarios internos utilizados fueron de administración parenteral (vía subcutánea) y estaban formulados en base a una combinación de imidazoles y praziquantel para abarcar el más amplio espectro posible de parásitos. Se les administraron dos dosis con un intervalo de dos semanas.
- Los antibiótico vitaminados fueron administrados en el agua de bebida y su formulación incluía tetraciclinas y vitaminas hidro y liposolubles. El período de administración fue de 7 a 10 días en forma continua según la necesidad.

Una vez finalizado el período de observación los animales pasan a formar parte de la colonia general.

2. Los animales de la colonia general reciben desparasitaciones externas e internas estratégicas.
3. Los animales nacidos en la colonia fueron alojados en salas independientes del resto de los animales de la colonia y se les realizan controles clínicos y análisis coproparasitológicos periódicos. Sólo se les administró medicación en caso de ser preciso, de esta forma se evitaron tratamientos innecesarios y que pudieran interferir con usos experimentales posteriores.

#### **4. Manipulación:**

Para la manipulación de las zarigüeyas se utilizan guantes protectores de goma (gruesos, tipo industrial) o guantes de cuero impermeables, prevención sanitaria y para evitar lesiones con las uñas en algún movimiento defensivo. Se complementa con un bastón intermediario que puede ser sólo una vara de madera con empuñadura o poseer en

el extremo opuesto a la empuñadura una estructura en “V” u horqueta. Este bastón puede tener un diámetro de 4 centímetros si es redondo o 2,5 centímetros por lado si es prismático cuadrangular. Debe ser de madera para no lesionar a los animales, ya que estos lo muerden y/o se aferran a él (**Figura 5. 13.**). El método para manipularlos consiste en distraer la atención del animal con el bastón esgrimido en una mano mientras se lo toma por la cola con la otra. Luego se le ofrece el bastón por debajo del cuerpo para que se afirme sobre el mismo y de esta manera extraerlo de la jaula y eventualmente transportarlo de un lugar a otro cercano. Si fuese necesario contenerlo con las manos, se procederá a depositarlo en el piso asiéndolo sólo por la cola con una mano y tomarlo con la otra por el dorso de cuello, en un movimiento rápido y firme. Se mantienen los brazos extendidos y se presenta el animal para que otro operador realice las maniobras necesarias. Durante todo este procedimiento los animales emiten un sonido característico que les es propio y resulta de una mezcla de bufido y chillido, con la boca siempre abierta y amenazadora. El género *Lutreolina* es mucho más ágil y movedizo que el *Didelphis*, por lo que deben extremarse los cuidados en la manipulación ya que pueden girar sobre sí mismos estando suspendidos y volverse contra el operador.



**Figura 5. 13.**

Personal del Instituto manipulando ejemplares de *L. crassicaudata* con los elementos de contención habituales.

Para contenciones más prolongadas o manipulaciones que requieran inmovilizar a los ejemplares se utilizan sedantes o anestésicos. Las dosis son notablemente menores a las utilizadas para anestesia, las que serán descriptas en el **Capítulo 9: Agentes químicos**

**para inmovilización y anestesia.** Las drogas utilizadas son de uso rutinario en la práctica veterinaria, ellas y sus respectivas dosis se resumen en la **Tabla 5.III.**

### **5. 3. 2. Resultados y consideraciones finales de esta sección.**

Las condiciones de alojamiento, alimentación y sanidad resultaron satisfactorias evidenciadas por:

- en el aspecto exterior de los animales, evidenciado por la ausencia de alteraciones dérmicas notables y de enfermedades emergentes producto de una deficiente respuesta defensiva inespecífica,
- la deambulación desplegada por las zarigüeyas, tanto en las baterías de reproducción como en las jaulas de semicautividad,
- el crecimiento y ganancia de peso de las crías,
- al no observarse signos clínicos exteriores de deficiencias nutritivas, basadas en las características de piel, pelo y faneras y mucosas aparentes,
- por la ausencia de muertes de dudosas etiología, ni siquiera en el período de adaptación donde es más esperable que sucedan, y
- los satisfactorios logros obtenidos en diversos procedimientos experimentales que luego serán detallados.

Los animales de ambos géneros en estudio se acostumbraron rápidamente a la nueva presentación del alimento, del mismo modo que a beber del pico dosificador en el caso de las jaulas individuales.

En el tópico de alimentación se ha hecho hincapié en la administración de vitaminas, sobre todo del grupo liposoluble, en ciertos estadios de los animales debido a la importancia de las mismas en diversos procesos metabólicos. Las vitaminas poseen cierta labilidad a las altas temperaturas (Bello Gutiérrez, 2000) que las deterioran o desnaturalizan en los procesos de preparación, almacenaje y conservación de los piensos comerciales. Por esto es que su administración ha sido preventiva y en todos los casos utilizados se observaron respuestas clínicas satisfactorias evidenciadas en el aspecto general de los animales, el mejoramiento de las características de la piel y la recuperación rápida de peso y dinamismo.

Dezonne Motta y col. (1983) reporta el uso de hígado, frutas y huevos para la alimentación de *D. marsupialis* en lugar de alimento balanceado para caninos, a causa de que este producía obesidad y aletargamiento. En nuestra experiencia, en *D. albiventris* no

se observaron dichas alteraciones al usar el alimento balanceado. Además se sugiere el uso de este tipo de alimentación para que las experiencias sean repetibles y normalizadas las condiciones de mantenimiento alimentario.

En lo que respecta al grosor de la cola como indicador del estado nutricional, por nuestra parte no hemos observado esta particularidad en *D. albiventris*, tanto en los ejemplares de la Colonia como en los recién llegados a cautividad, a pesar de las diferentes épocas estacionales de arribo. Sin embargo fue muy notoria esta característica en *L. crassicaudata*, tanto en los ejemplares de la Colonia como en los recién capturados. Las diferencias en el diámetro de la base de la cola eran muy llamativos, y aquellos animales que llegaban con colas muy delgadas, rápidamente se les engrosaba al recibir una alimentación constante.

Algunos animales llegados a la colonia presentaron lesiones superficiales sobre todo en los miembros y en la boca producto de la captura o previas a ella. Las mismas fueron tratadas con soluciones antisépticas y aerosoles antibióticos en forma local con resultados satisfactorios.

No se observaron muertes en animales recién llegados a la Colonia durante el período de adaptación. La mayor parte de las publicaciones sobre patologías de zarigüeyas (u opossum) se refieren a *D. virginiana* y casi no hay registros para *Lutreolina* (Barr, 1963; Potkay, 1970; Potkay, 1977).

Las comunicaciones en nuestro medio referidas a endo y ectoparasitosis no son muchas y se refieren a hallazgos en la naturaleza (Boero, 1967; Boero y Boerhringer, 1967; Lombardero y Moriena, 1973; Martínez, 1986; Santa Cruz y col., 1998; Santa Cruz y col., 1999). Esto hace que, en el caso particular de las endoparasitosis, no pueda confeccionarse aún una clave diagnóstica de huevos.

Se propone un trabajo de investigación parasitológica más exhaustivo realizando cultivo de larvas para correlacionar morfología de huevos con especie parásita de origen y presencia cuantitativa de la misma.

Los estudios coproparasitológicos realizados por el autor sobre los animales de la Colonia sirvieron para identificar presencia de huevos de parásitos, pero no grado de infestación, ya que no fue un estudio cuantitativo. La solución de Benbrook resultó más confiable tanto para el Método de Flotación como para el de Sedimentación. La sola presencia de huevos sospechosos en los preparados ameritó la instauración de un tratamiento antiparasitario terapéutico.

Otro tópico a destacar es la expectativa de vida de *D. albiventris* bajo las citadas condiciones de bioterio. Los datos de que se dispone son muy variables. Por un lado Hartman (1923 a) sugiere que, en estado silvestre, *D. virginiana*, puede vivir hasta siete años. Otros autores, con estudios más recientes, indican una expectativa de vida no mayor a los dos años para *D. virginiana* y *D. marsupialis* (Petrides, 1949; Llewellyn y Dale, 1964; O'Connell, 1979). Iguales resultados publican Regidor y Gorostiague (1996), en base a estudios hechos en *D. albiventris* en el partido de Ensenada (aproximadamente: 34°52' S 57°58' O) cercano a la ciudad de La Plata, capital de la provincia de Buenos Aires (Argentina). En nuestras instalaciones hemos observado animales que han llegado a los 5 años de vida. Los mismos presentaban muy evidentes signos de senilidad como opacidad corneal, cataratas, encanecimiento del pelaje -sobre todo en la cabeza-, marcada adinamia y dificultad en los movimientos de translación semejante a los producidos por artrosis, consunción de la masa muscular a pesar de una normofagia. Estas observaciones resultan de importancia, pero debe aclararse que han sido aisladas, realizadas sobre animales que se mantenían en la Colonia para investigaciones neurobiológicas, temática central del Instituto y sin el rigor de estudios de sobrevivencia a largo plazo.

Los soportes colocados dentro de las baterías de reproducción a modo de lo vulgarmente llamado “perchas” resultaron un acierto. Los ejemplares alojados allí se colgaron de estos elementos de enriquecimiento y se balancearon de ellos colgados de sus colas como lo hacen entre las ramas de los árboles en estado silvestre. Fue llamativo observar este comportamiento también entre los animales nacidos en cautividad, sin la enseñanza maternal de dicha conducta.

Los elementos de enriquecimiento colocados en las jaulas de semicautividad obtuvieron el mismo grado de aceptación. Los animales allí alojados los utilizaron para trepar y balancearse entre ellos, así como también para descansar sobre los mismos.

Según Cabrera y Yepes (1960), Hunsaker y Shupe (1977) y Contreras (1983) los ejemplares del género *Didelphis* se caracterizan por ser solitarios y presentar conductas agresivas intraespecíficas, excepto en la época reproductiva cuando los individuos de diferente sexo se buscan para el apareamiento. Sin embargo en las instalaciones de la Colonia de Armadillos y Marsupiales descriptas para las etapas reproductivas de las zarigüeyas, no hemos visto agresiones muy manifiestas, sino separación respetando mínimos espacios vitales y mientras dispongan de un lugar individual, reparado y aislado para dormir, descansar o recluirse. Esto se observó tanto en las baterías de reproducción como en las jaulas de semicautividad.

Otra observación interesante para *D. albiventris* en este sistema de alojamiento fue el hecho de escuchar un chasquido hecho con la boca por parte de los machos. Este comportamiento se manifestó cuando una hembra estaba en período de estro en la misma sala que el macho emisor o una hembra en dichas condiciones eran paseados por delante de la jaula del macho. Este sonido, muy potente y notorio, se pudo escuchar en las salas de alojamiento. Sin embargo no se pudo determinar en las jaulas de semicautividad debido a la distancia del observador y los sonidos ambientales que interferían la audición, por lo que no se puede aseverar su inexistencia. Esta conducta podría deberse a una “marcación” de hembras en celo o también a un indicio de “propiedad” sobre la hembra receptiva al apareamiento.

Acerca de las dos últimas consideraciones, las mismas coinciden con estudios realizados por Bianchini (comunicación personal). Estos estudios, aún no publicados, se basan en el análisis de la conducta social y reproductiva de *D. albiventris* bajo condiciones de cautividad pero no en bioterio. Las observaciones realizadas en La Plata, por dicho investigador, hacen referencia al bajo nivel de agresión en los grupos de zarigüeyas cautivas y a la emisión, en diversas circunstancias, del sonido descrito.

En lo que respecta al alojamiento de *L. crassicaudata*, a pesar que algunos autores la han considerado como semiacuática (Marshal, 1978; Stein, 1989) por su habilidad natatoria, no hemos considerado necesario colocar en sus jaulas una batea con agua para nadar. Nuestra decisión se basa en el trabajo de Davis (1966), quien observó que las *Lutreolinas* por él estudiadas en cautividad usaban el estanque de agua sólo para beber, no nadaban en él. Además estas zarigüeyas no presentan pelos impermeables al agua ni miembros posteriores palmeados y extendidos como su pariente *Chironectes minimus* (zarigüeya de agua o cuica de agua), por lo que resulta dificultoso considerarlas acuáticas.

La manipulación resulta complicada a primera vista. Sin embargo con un breve y adecuado adiestramiento, el operador logra una destreza adecuada para la contención del animal. Se aprende rápida y fácilmente a interpretar el ritual corporal característico de rechazo por parte del animal y se actúa en consecuencia para evitar agresiones. A medida que pasa el tiempo, los animales se van habituando a la manipulación y permiten tomarlos sin dificultad, pero nunca abandonan el hábito de emitir sonidos de desagrado, aunque son de tono más suave y no están diseccionados hacia el operador. He llegado a alimentar ofreciendo comer de la mano a crías nacidas en el Bioterio de cuarta a octava generación sin ser agredido. Las crías nacidas en cautiverio son fácilmente manipulables y poseen

*Armadillos y Zarigüeyas como Modelos Experimentales en la Investigación Biomédica:  
Contribuciones a la Generalización de su Uso*

conducta amigable desde el destete hasta los cuatro o cuatro meses y medio de edad. A partir de allí comienzan a presentar una exhibición de agresividad.

De los diferentes sistemas de alojamiento propuestos en esta Tesis, así como de las consideraciones referidas a la manipulación de estas zarigüeyas, se desprenden algunas peculiaridades comportamentales que merecerían ser contrastadas con estudios realizados en estado silvestre para poder realizar aseveraciones más generalizadoras respecto a las diferentes conductas de estos sorprendentes marsupiales.

## **Capítulo 6:**

### **Estudios sobre aspectos reproductivos en condiciones de bioterio de Armadillos y Zarigüeyas.**

#### **6. 1. Introducción.**

Se ha puntualizado en repetidas oportunidades la importancia de los Animales de Laboratorio No Tradicionales en la investigación biomédica, haciendo especial énfasis en los armadillos (Talmage y Buchanan 1954; Anderson y Benirschke 1962; Storrs, 1971; Affanni, 1983; Iodice y Affanni 1988 b) y en las zarigüeyas (Moore y Bodian, 1940; Krupp y Quillin, 1964; Sherwood y col., 1969; Jurgelski, 1974; Jurgelski y Porter, 1974; Jurgelski y col.1974; Jurgelski, 1979; Iodice, 1988; Iodice y Affanni, 1988 a) como modelos experimentales.

Sin embargo en toda cría de Animales de Laboratorio No Tradicionales aparecen problemas prácticos que requieren de soluciones específicas. Uno de éstos es la reproducción en condiciones de cautividad.

Es de vital importancia el logro de reproducción en condiciones de bioterio de las especies en estudio dado que este logro lleva aparejada la seguridad de que las pautas de mantenimiento en cautividad son más que aceptables. Esto indica que se han mantenido a salvo las funciones reproductivas, tan sensibles al estrés de cautividad.

Además permite obtener ejemplares de edad conocida, calidad sanitaria deseada y definición parental comprobada. Requisitos muy preciados en estudios ontogénicos y de cierta cronicidad.

Se describen a continuación algunos de los trabajos realizados con tal fin, tanto en los Armadillos como en las Zarigüeyas estudiados en esta Tesis.

## **6. 2. ARMADILLOS**

---

La decisión de utilizar ALNT como modelos experimentales suele resolver problemas que hasta ese momento resultaban imposibles de solucionar. Tal es el caso de los Armadillos con la investigación en leprología.

Los Armadillos son mamíferos euterios que habitan, en la actualidad, exclusivamente el continente americano y la mayor diversidad de especies se encuentra en América del Sur.

Esta especie adquiere gran importancia en las ciencias biomédicas a principios de la década de 1970 cuando se descubre su susceptibilidad al *Mycobacterium leprae* y el posterior desarrollo lepromas bacilares comparables a los del hombre (Storrs, 1971)

Sin embargo ya a principios del siglo XX llamó la atención de los investigadores otra característica biológica de algunos de estos mamíferos: su poliembrionía específica; siendo el argentino M. Fernández (1909) uno de los primeros en trabajar sobre el tema.

Posteriormente muchos investigadores resumieron diversas características y aplicaciones de los diversos Armadillos a la investigación biomédica (Mazza y col.1931; Talmage y Buchanan 1954; Anderson y Benirschke 1962; Cacchione y col.1966; Storrs y Williams 1968; Wampler 1969; Affanni 1972; Storrs y Greer 1973; Affanni y García Samartino 1984; Iodice y Affanni 1988 b). Las mismas fueron oportunamente detalladas y sólo se resaltarán las siguientes por su relevancia fisiológica y evolutiva:

- Poliembrionía específica, ideal para el estudio de la influencia ambiental sobre animales genéticamente iguales
- Implantación diferida del blastocisto
- Larga expectativa de vida, ideal para experiencias crónicas
- Baja temperatura corporal
- Posible respuesta inmunitaria débil
- Posibilidad de mantener grandes deudas de oxígeno
- Frecuentes mutaciones génicas expresadas en las placas del caparazón
- Susceptibilidad a drogas teratogénicas para el hombre
- Grandes cuerpos adrenales fetales
- Relativa facilidad para realizar hipofisectomías
- Susceptibilidad a enfermedades zoonóticas: uso en estudios epidemiológicos
- Fácil acceso quirúrgico a diversos centros cerebrales

Cabe aclarar que no todas las especies de Armadillos comparten las particularidades antes descritas, por otro lado, el estudio más detallado de especies poco investigadas podría aportar nuevas aplicaciones en biomedicina.

Dado que el género *Chaetophractus* comparte muchas de las características generales atribuidas a los Armadillos, son particularmente útiles como modelo para las investigaciones neurobiológicas (Affanni 1972; Affanni y García Samartino 1984), por lo tanto es esencial estudiar los factores que afectan su reproducción en cautividad.

Existe un gran número de trabajos acerca del género *Dasyopus*, referidos al mantenimiento, crianza y reproducción en condiciones de laboratorio (Wampler 1969; Storrs y Greer 1973). Sin embargo hay escasos datos en estos campos referidos al género *Chaetophractus*, específicamente *C. villosus* y *C. vellerosus*, cuyos nombres comunes son peludo y piche llorón respectivamente (Cabrera y Yepes 1940; Walker 1968).

Las comunicaciones personales y la bibliografía no específica nos hacen suponer que la tarea de crianza del género *Chaetophractus* en condiciones de laboratorio no resulta fácil. Las hembras de las especies en estudio no presentan signos externos evidentes y confiables que nos permitan inferir las etapas de su ciclo estral. En estos casos se suele apelar a la técnica del estudio de la citología vaginal exfoliativa para determinar dichas fases. En repetidas oportunidades hemos intentado poner a punto esta técnica levemente invasiva e incruenta. Sin embargo no hemos tenido éxito, como tampoco lo han tenido otros investigadores (Merani, 2009). En nuestro país se realizaron estudios a campo y en laboratorio tendientes a determinar los ciclos y parámetros reproductivos en estas especies. Se apeló a una técnica no invasiva como es el estudio seriado de la presencia de estrógenos y progesterona en materia fecal. Los resultados obtenidos permitieron obtener una serie de picos hormonales que indicaban un cuadro de poliestría estacional. Se realizaron paralelamente muestreos de valores séricos de dichas hormonas con el fin de correlacionarlos con los obtenidos en las muestras fecales. Los resultados fueron alentadores y sólo queda aumentar el número de muestreo para confirmar los datos obtenidos (Mira y col. 2005; Luaces y col. 2007).

### **6. 2. 1. Procedimientos para obtener reproducción del género *Chaetophractus* en condiciones de laboratorio<sup>6</sup>.**

#### **Objetivos.**

- a. Apareamiento programado de parejas de las especies en estudio en jaulas de semicautividad.
- b. Preparación y cuidados especiales a las hembras que llegaban preñadas al momento de la captura.

El objetivo del presente capítulo es la comunicación de los resultados exitosos del mantenimiento y reproducción de dos especies de Armadillo del género *Chaetophractus* bajo condiciones de Bioterio y comprobar la eficacia de las instalaciones especialmente diseñadas para criar a estos animales.

#### **Materiales y método.**

Los animales utilizados pertenecen a la Colonia de Marsupiales y Armadillos del Instituto de Neurociencia – Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (Ineuci – Conicet), que se asienta en el Bioterio central de la Facultad de Ciencia Exactas y Naturales (UBA). Las especies utilizadas son *Chaetophractus villosus* (peludo) y *Chaetophractus vellerosus* (piche llorón). Los ejemplares (alrededor de 400 a lo largo de 5 años) han sido de edades, sexo y estado reproductivo variados.

#### **1- Alojamiento.**

Las instalaciones del bioterio fueron descritas anteriormente (**Capítulo 5: Condiciones de alojamiento**) y aquí sólo se enfatizarán las implicadas en las experiencias de reproducción. Los animales fueron alojados de dos maneras:

##### **a. Tanques de cemento (Figura 5.3)**

##### **b. Jaulas de semicautividad (Figura 5.4 A y 5.5 A)**

##### **a. Tanques de cemento**

##### **a. 1. Microambiente:**

Tanques circulares de cemento de 1,5 m de diámetro y 1 m de altura. Se acondicionan con una delgada capa de tierra o pasto en el piso como factor de enriquecimiento. Dentro de los mismos se colocaron cajas de madera o metal de forma

---

<sup>1</sup> Parte de la información presentada a continuación fue comunicada en forma de póster como: “Successful procedures for obtaining reproduction of *Chaetophractus villosus* and *Chaetophractus vellerosus* in laboratory conditions”. Iodice y Affanni. 1986. Regional / International Meeting on Laboratory Animals. ICLAS-CEMIB-FESBE., Aguas de Lindoia, Brasil.

invertida, para ofrecer un ámbito con oscuridad para ser utilizadas como nido. Estos tanques pueden oscurecerse adecuadamente según las necesidades experimentales. Los tanques se encuentran dentro de salas.

**a. 2. Macroambiente:**

En las salas con jaulas o tanques, no hay regulación lumínica ni de humedad. La luz, además de la artificial usada para las tareas de mantenimiento y experimentación, llega a través de ventanas convenientemente selladas para evitar el ingreso de animales y/o elementos extraños, por lo que mantiene un ciclo lumínico básicamente natural. Las salas son calefaccionadas en época invernal o de baja temperatura para que no haya una temperatura menor a los 20 °C. La ventilación se realizó mediante extractores de aire colocados a ras del piso y rejillas para entrada del aire ubicadas en la parte superior de las salas, en paredes opuestas. Los extractores estaban automatizados para funcionar quince minutos cada cuatro horas.

**b. Jaulas de semicautividad**

**b. 1. Microambiente:**

Las jaulas de semicautividad eran recintos de 2 m de ancho por 4 m de largo, con piso de tierra. Por debajo de la superficie tienen unas paredes y piso de mampostería a 1 m de profundidad, lo que determina una estructura estanca en forma de pileta subterránea. Esta tiene por objeto evitar que los animales no salgan fuera de las instalaciones debido a sus hábitos cavícolas. Por sobre la superficie tiene una pared de mampostería de 1,1 m de altura, continuándose con una pared de alambre tejido hasta una altura de 3 m en la parte más baja y 1,5 m en la más alta. El techo también es de alambre tejido y tiene una inclinación con pendiente hacia la parte externa del edificio. El mismo posee una cobertura de vidrio en la mitad de su extensión para la protección e lluvias y otras inclemencias atmosféricas. Además poseen una jaula-trampa con puerta unidireccional para recapturar a los animales, ya que por sus hábitos nocturnos y cavícolas no están constantemente al alcance del operador. En estos recintos de tierra se colocaron plantas, piedras y restos de troncos, para que actuaran como factores de enriquecimiento en cautividad.

**b. 2. Macroambiente:**

En las jaulas de semicautividad las condiciones de luz, humedad y temperatura son las mismas que en el ambiente exterior.

## **2- Alimentación.**

En estado silvestre son carnívoros-omnívoros, consumen carroña, huevos, restos vegetales (frutos, raíces, semillas) y pequeños vertebrados. Son a la vez insectívoros ingiriendo gran cantidad de coleópteros, tanto larvas como adultos (Young, 1977; Wilson y Reeder, 2005).

Para ambos géneros, la alimentación en cautividad consistió, siguiendo anteriores experiencias de los primeros investigadores (Anderson y Benirschke 1966; Merrit, Jr., 1973) en alimento balanceado calidad premium para caninos. Se les administraba alrededor de 200 gr diarios en un comedero de estructura suficientemente resistente, se usaron baldosas ahuecadas redondas de vidrio, por su dureza y fácil sanitización (**Figura 5.7.**).

En ocasiones especiales como estados fisiológicos de preñez o estados patológicos de subnutrición se ha completado la dieta con vitaminas liposolubles y/o semillas (maíz, trigo, girasol).

En las **Tablas 5. I** y **5. II** se detalla la composición general y porcentual, respectivamente, del alimento citado.

El agua fue administrada ad-libitum en los recipientes de vidrio ya descritos (**Figura 5. 7.**).

## **3- Sanidad.**

En el aspecto sanitario los animales reciben dos tipos de tratamientos:

- A los ejemplares recién capturados se les insta un período de aislamiento no menor a 30 días. Durante el mismo se les realizan controles clínicos periódicos y análisis coproparasitológicos. Se les trata en forma preventiva con antiparasitarios externos e internos y complejos vitamínicos.
- Los animales de la colonia general reciben desparasitaciones externas e internas estratégicas.

Las pautas seguidas en estos procedimientos están detalladas en el **Capítulo 5: Condiciones de alojamiento.**

## **4- Procedimientos experimentales de apareamiento y resultados.**

Fueron realizados dos planes experimentales:

- a. Apareamiento programado de parejas de las especies en estudio en jaulas de semicautividad.

**b.** Preparación y cuidados especiales a las hembras que llegaban preñadas al momento de la captura.

**a.** Apareamientos programados:

Las hembras del género *Chaetophactus* no presentan evidencias externas confiables que nos indiquen el momento adecuado del apareamiento. Los estudios que hemos realizado, basados en citología vaginal exfoliativa no resultaron satisfactorios.

Hemos observado en aisladas oportunidades la presencia de un flujo sero-sanguinolento de procedencia vaginal, que no pudimos correlacionar con estadios de la fisiología reproductiva y no se pudo establecer una periodicidad evidente.

Al ser escasos los datos respecto a la reproducción en cautividad de este género, el trabajo piloto se basó en información oral y empírica al respecto.

Por comunicaciones orales se estableció que la estación reproductiva se extiende desde mediado de invierno hasta mediados de verano en el hemisferio sur.

En base a estas observaciones, dos parejas de *C. vellerosus* y tres parejas de *C. villosus* fueron colocados en las jaulas de semicautividad en dos estaciones reproductivas consecutivas. Los animales fueron desparasitados internamente con las drogas anti-cestodes y nematodos a modo preventivo. Recibieron un tratamiento preventivo también con antibióticos y vitaminas. Los animales fueron alojados en dichas jaulas entre agosto de 1988 y enero de 1989. Allí construyeron sus cuevas y desarrollaron una actividad principalmente nocturna. Durante enero de 1989 se observó en una jaula de *C. vellerosus* una cría hembra y dos crías machos en una de *C. villosus*; los tres de muy pocos días de vida. Los animales recién nacidos se desarrollaron satisfactoriamente, sin alteraciones clínicas evidentes. Permanecieron en sus respectivas jaulas por seis meses, para luego pasar a formar parte del resto de la Colonia en las jaulas individuales.

**b.** Parto en cautiverio de hembras que ingresaron preñadas a la Colonia:

A lo largo de varias estaciones reproductivas se encontraron 5 hembras de *C. villosus* preñadas al momento de captura. Ellas fueron alojadas en los tanques de cemento ya mencionados, oscurecidos para esta ocasión con una cobertura no transparente. Se colocaron en su interior pequeñas cajas de madera para que las hembras pudieran utilizarlas como nidos.

Fueron administrados complejos vitamínicos junto con el alimento, principalmente vitaminas liposolubles.

Bajo las condiciones mencionadas, todas las hembras tuvieron partos eutócicos de mellizos (**Fig. 6. 1.**).



**Fig. 6. 1.**

Puede observarse una hembra de *C. villosus* dentro de un tanque de cemento. Por debajo de su cuerpo asoman dos crías de pocos días de nacidas.

Dos machos en tres casos y un macho y una hembra en los otros dos partos. Las condiciones clínicas y la ganancia de peso de las crías no presentaron características que resultaran inciertas en referencia a su sobrevivencia.

En el último parto, el macho murió después de dos semanas. Efectuada la correspondiente necropsia, no presentó signos macroscópicos que indujeran a determinar la causa de su muerte. El resto de los animales se desarrolló satisfactoriamente bajo cuidados especiales, tales como:

- desinfección del ombligo para prevenir onfalitis,
- administración de complejos vitamínicos (especialmente liposolubles) y minerales, y
- controles periódicos de variables clínico-fisiológicas.

Para realizar estos cuidados se efectuó una manipulación de las crías desde el primer día y fue de lo más laboriosa. Se utilizaron guantes de látex.

Como primer paso se refregaron las manos enguantadas en la tierra, pasto u otro material que se usara como elemento absorbente y enriquecedor. También se frotaba el caparazón de la madre. Una vez que los guantes habían adoptado olor familiar para las crías, recién ahí se los manipulaba.

El crecimiento de tres camadas de estos *C. villosus* nacidos en el Bioterio fue controlado midiendo su ganancia de peso corporal medido semanalmente mediante una

balanza mecánica. Los resultados se podrán observar en el **Capítulo 7: Estudios de crecimiento en condiciones de bioterio.**

### **6. 2. 2. Consideraciones finales de esta sección.**

Este estudio preliminar demuestra, bajo las condiciones mencionadas anteriormente, la eficacia de las instalaciones y aptitud reproductiva de los animales usados.

Los resultados obtenidos nos estimulan a repetir las pruebas para mejorar las condiciones de cautividad y los resultados reproductivos.

Las condiciones descritas y considerando el período de gestación observado, se sugiere que el *C. villosus* y el *C. vellerosus* no presentan implantación diferenciada del huevo fertilizado, como sucede en el género *Dasyopus*. Otra observación que surge es que el *C. villosus* no tiene parición de gemelos específica y constante como *Dasyopus*, aseveración que no puede generalizarse todavía para *C. vellerosus* a la luz de los actuales resultados

Los nacimientos obtenidos en los tanques y la sobrevivencia de los recién nacidos demuestran que bajo las condiciones de alojamiento establecidas y los cuidados adecuados, se puede prevenir las patologías perinatales observadas por otros autores (Resoagli y col. 1986; Maccio y col. 1988) como.

- abortos,
- abandono de los recién nacidos y
- canibalismo.

La manipulación de las crías de *C. villosus* se realizó desde el primer día. Sospechando que podía existir un rechazo del recién nacido por parte de la madre si descubriese olores del operador en sus crías, se diagramaron los procedimientos descriptos precedentemente en **Materiales y Método**. El frote sobre el cuerpo de la madre se centró en la zona de las glándulas pelvianas para lograr una mayor identificación del olor de la madre sobre el guante. Estos procedimientos insumían un tiempo prolongado pero necesario.

El procedimiento de manipulación de las crías recién nacidas, aunque laborioso e incómodo, se juzgó exitoso ya que no se observaron signos de rechazo. Será necesario realizar nuevos estudios comportamentales para confirmar que tales procedimientos son imprescindibles o no y si pueden ser reemplazados por otros más simples.

El criterio utilizado para efectuar el destete fue la suma de dos factores observados. Uno fue la alimentación espontánea del alimento balanceado de la madre por parte de las crías y el otro la notable disminución del desarrollo glandular mamario de la madre, llegando casi al agotamiento. Estas dos situaciones se produjeron entre las 10 y 11 semanas de vida, por lo que se decidió que era un momento adecuado para el destete.

La técnica del desmadre se realizó a fin de amortiguar el shock de separación de las crías de su madre, permaneciendo en compañía de su hermano por un tiempo que se establece en forma arbitraria al no haber estudios previos que orienten sobre estos plazos.

Los datos de ganancia de peso obtenidos semanalmente fueron graficados confeccionando una curva de crecimiento que servirá de orientación para futuras investigaciones ampliatorias. Dichos datos serán reportados en el **Capítulo 7: Estudios de crecimiento en condiciones de bioterio.**

A partir de los estudios de Codón y Casanave (1996) y Codón y col. (2001) sobre estructura ovárica en *C. villosus* es esperable que se logre una técnica confiable de detección externa de celo a fin de establecer el momento ideal para apareamientos programados.

Sugerimos el uso de las condiciones descritas para el cuidado, el mantenimiento y la cría del género de *Chaetophractus* bajo condiciones del bioterio.

### 6.3. ZARIGÜEYAS

---

*Cuando nació Jesús, la mbicuré (así llaman a la zarigüeya en guaraní), tal como hicieron los Reyes Magos, fue a visitarlo y adorarlo. Cuando llegó, encontró a la Virgen María llorando. Le preguntó que le pasaba y ella le contó que sufría, se sentía débil y agotada luego del alumbramiento y por la escasez de alimentos. -“No desespere Mi Señora”- respondió la zarigüeya, y se fue apresurada. Regresó luego de un rato con un humeante y atrayente caldo de gallina, considerado en la medicina criolla un excelente alimento para los débiles y en especial para las parturientas. La Virgen quedó reconfortada y agradecida y en retribución bendijo al servicial animal. Desde ese entonces las zarigüeyas no sufren durante el parto.*

(Leyenda del litoral argentino adaptada de Perkins Hidalgo, 1963).

Es sorprendente como los aborígenes guaraníes, autores de esta leyenda, percibieron la facilidad y sencillez del parto de las zarigüeyas sin los procedimientos experimentales que hoy disponemos.

Los didélfidos son metaterios que no poseen placentación uterina, por lo que el parto no produce pérdida sanguínea. Los embriones “flotan” en el interior del útero hasta su nacimiento. Este se produce en un estado tal de inmadurez que se ha dicho que nacen en un estado larvario (Grassè, 1980) o semiembrionario (Jurgelski Jr, 1971, 1976), con las consecuentes controversias generadas por el uso de estos términos sobre individuos ya nacidos. En el momento del parto la hembra adopta una posición sentada y con una extrema flexión del abdomen, lo que acerca notablemente la hendidura vaginal a la entrada del marsupio. Las crías al llegar al exterior avanzan por sus propios medios hacia la bolsa marsupial. Lo hacen exclusivamente mediante sus miembros anteriores que ya se encuentran muy desarrollados al igual que el aparato bucal, el resto del cuerpo presenta una inmadurez sumamente notoria (**Fig. 6. 2.**). Una vez dentro del marsupio se aferran tan íntimamente a los pezones por medio de su boca, que antiguamente se presumía que formaban una estructura sincicial, luego rechazado. Gardner (1982) explica que cada cría se mantiene adherida al pezón materno en forma permanente durante cierto tiempo,

anclada por la punta de los pezones hinchados y con la ayuda de una serie de pequeñas proyecciones en los labios, lengua y paladar.



**Fig. 6. 2.**

Fotografía de una cría de *D. albiventris* de pocos días de nacida. Puede observarse el escaso desarrollo y maduración de su cuerpo.

Dentro de la bolsa marsupial completan la maduración de más de las dos terceras partes de su desarrollo ontogénico (Reynolds, 1952; Jurgelski, 1974; Jurgelski y Porter, 1974; Jurgelski y col.1974; Tyndale-Biscoe y MacKenzie, 1976; Hunsaker II, 1977; Jurgelski, 1979; Tyndale-Biscoe y Janssens, 1988).

El género *Didelphis* tiene un patrón reproductivo poliéstrico estacional (varios ciclos estrales dentro de la misma época reproductiva). La estación reproductiva en el hemisferio sur abarca desde fines de invierno o el inicio de la primavera (según la latitud) hasta fines de verano (Tyndale-Biscoe y Mackenzie 1976, Regidor y Gorostiague 1996; Cáceres y Monteiro-Filho 1997). Hartman (1923 b) fue uno de los primeros en el estudio del ciclo estral de los Didélfidos, lo hizo en el opossum norteamericano.

Pérez Carusi (2006) cita variaciones en el inicio de la estación reproductiva y la poliestría de la misma dependiendo de factores ambientales. A mayores latitudes el tamaño de la camada aumenta y se retrasa el inicio de la estación reproductiva. Esto último favorecería la hipótesis de la influencia del fotoperíodo sobre la misma. Por otro lado, en el caso de una región de Brasil con un régimen irregular de lluvias (Caatinga), *D. albiventris* produce una sola camada en noviembre o principios de diciembre, perdiendo su patrón poliéstrico. Sin embargo la fecundidad anual o productividad neta de las hembras es el mismo que la del rango latitudinal que ocupa.

Varios autores (O'Connell, 1979; Julien-Laferrrière y Atramentowicz, 1990; Hossler y col. 1994) plantean que, además de los factores externos, existen factores intrínsecos que podrían afectar la performance reproductiva de las zarigüeyas como su

estado nutricional, la edad y el peso corporal entre otros. Sugiriendo también que estos factores podrían condicionar el número de mamas funcionales.

Según Cabrera y Yepes (1960) y Hunsaker y Shupe (1977) los ejemplares del género *Didelphis* se caracterizan por ser solitarios y presentar conductas agresivas intraespecíficas, excepto en la época reproductiva cuando los individuos de diferente sexo se buscan para el apareamiento.

Los datos sobre la fisiología reproductiva de *L. crassicaudata* son relativamente escasos, también indican que es poliéstrica estacional durante la primavera y el verano del hemisferio meridional (Marshall, 1978; Eisenberg, 1989 b; Monteiro-Filho y Dias, 1990; Nowak, 1991; Graipel y col. 1996; Regidor y col. 1999; Cáceres y col. 2002; Wilson y Reeder, 2005).

### **6. 3. 1. Procedimientos para obtener reproducción de *D. albiventris* y *L. crassicaudata* en condiciones de laboratorio.**

#### **Objetivos.**

Obtener reproducción de *D. albiventris* y *L. crassicaudata* bajo condiciones de bioterio.

Con el objetivo de obtener zarigüeyas de edad y parentalidad conocida mediante el procedimiento de apareamientos programados, se plantearon varios estudios secuenciales para lograr el fin propuesto:

- A. Establecimiento de una técnica confiable para el estudio del ciclo reproductivo de las especies de interés en esta Tesis<sup>7</sup>.**
- B. Caracterización de los diferentes períodos del ciclo estral de las especies en estudio<sup>8</sup>.**
- C. Apareamiento programado de las especies en estudio<sup>9</sup>.**

---

<sup>7</sup>Parte de la información presentada a continuación fue comunicada en forma de póster como: "Técnica para el estudio de la citología vaginal exfoliativa en zarigüeyas (*Marsupialia, Didelphidae*)". Iodice y col., 1988 c. Comunicación: P 232. VI Congreso Argentino de Ciencia Veterinarias. Agosto. Bs. As. Argentina.

<sup>8</sup> Parte de la información presentada a continuación fue comunicada en forma de póster como: "Determinación de las fases del ciclo estral en dos marsupiales americanos (*Didelphidae*): *Didelphis albiventris* y *Lutreolina crassicaudata* bajo condiciones de bioterio". Iodice y col. 1988 a. XVI Congreso de la Asociación Latinoamericana de Ciencias Fisiológicas. Bs. As. Argentina.

<sup>9</sup> Parte de la información presentada a continuación fue comunicada en forma de póster como: "Reproduction and growth of *Lutreolina crassicaudata* in laboratory conditions". Iodice y col., 1986 a. Regional / International Meeting on Laboratory Animals. ICLAS-CEMIB-FESBE. Aguas de Lindoia, Brasil.

## **Materiales y método.**

Fueron utilizados ejemplares adultos de *D. albiventris* y *L. crassicaudata* pertenecientes a la Colonia de Armadillos y Marsupiales del INEUCI, todos plenamente adaptados a las condiciones de Bioterio.

La alimentación y las condiciones sanitarias a las que estaban sometidos los ejemplares ya fueron descritos en el **Capítulo 5: Condiciones de alojamiento.**

Las instalaciones del bioterio fueron descritas anteriormente y aquí sólo se enfatizarán las implicadas en las experiencias de reproducción. Los animales fueron alojados de la siguiente forma:

- **Hembras de zarigüeyas overas (*D. albiventris*)**
  - a. En baterías de reproducción, diseñadas y construidas especialmente por los autores (**Figura 5. 9.**).
  - b. En jaulas de semicautividad (**Figura 5. 10.**).
- **Hembras de zarigüeyas coloradas (*L. crassicaudata*).**
  - a. En compartimientos de cemento de 153 cm de largo, 90 cm de ancho y 43 cm de altura con tapas de alambre tejido (**Figura 5. 12.**).
- **Machos de zarigüeyas overas (*D. albiventris*)**
  - a. En jaulas de mampostería, de 50 cm de ancho, 50 cm de profundidad y 60 cm de altura (**Figura 5. 8.**).
  - b. En baterías de reproducción, diseñadas y construidas especialmente por los autores (**Figura 5. 9.**).
- **Machos de zarigüeyas coloradas (*L. crassicaudata*).**
  - a. Individuales de alambre de 44x32x25 cm (**Figura 5. 11.**).

## **A. Establecimiento de una técnica confiable para el estudio del ciclo reproductivo de las especies de interés en esta Tesis.**

### **Introducción.**

Cuando las evidencias externas de celo y ovulación en los animales no son confiables, el estudio del ciclo estral mediante técnicas citológicas se hace imprescindible para escoger la fecha ideal a fin de realizar apareamientos programados.

La obtención y posterior estudio de muestras vaginales para predecir los distintos períodos del ciclo estral y el momento de la ovulación ya han sido descritos en *D.*

*virginiana* (Reynolds, 1952; Jurgelski y Porter, 1974). Sin embargo es sumamente escasa la información acerca de *D. albiventris* (Martínez Esteve, 1937).

Sin embargo, usando las técnicas descritas por los citados autores, encontramos que la calidad del material obtenido no era satisfactoria. Con el fin de optimizar dichos estudios se describe una nueva técnica para la toma de muestras de citología vaginal exfoliativa y su posterior coloración para identificar los distintos tipos celulares que van predominando en las diferentes etapas del ciclo estral en los marsupiales sudamericanos *Didelphis albiventris* y *Lutreolina crassicaudata*. La técnica de coloración que se adopta es la de Papanicolaou (1954), a la que se le introducen algunas modificaciones.

La línea de trabajo tendiente a adaptar a las condiciones de Bioterio a estos dos marsupiales americanos: *L. crassicaudata* y *D. albiventris*, conocidos vulgarmente con los nombres de coligueso o zarigüeya colorada y zarigüeya overa o zarigüeya picaza respectivamente ya ha sido descrita en el capítulo de importancia en la investigación y en otras publicaciones anteriores. (Petersen y col., 1984; Iodice y col., 1985; Iodice y col., 1986 a; Iodice, 1987; Iodice y col. 2007).

Los animales utilizados pertenecían a la Colonia de Armadillos y Marsupiales ubicada el Bioterio Central de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (UBA), todos adultos y con total adaptación a las condiciones de cautiverio ya citadas. Los mismos procedían tanto de capturas a campo como de nacimientos en la colonia. Se aplicó la misma metodología para las dos especies.

### **Metodología:**

Los procedimientos para la toma y procesamiento de las muestras, indicando las modificaciones propuestas son los siguientes:

1. Se extrae al animal de la jaula utilizando guantes de protección y un bastón intermediario si fuera necesario (**Figura 6. 3.**).
2. Se lo toma por la cola ejerciendo una leve tracción hacia arriba, permitiendo que éste se aferre con sus patas delanteras al alambre de la jaula. Esta maniobra deja al alcance del operador el orificio ano-uro-genital. Cabe aclarar la conveniencia de utilizar animales que previamente fueron adaptados a la manipulación para minimizar el peligro de la contaminación de las muestras con orina y/o materia fecal. Si esto se produce, deberá desecharse la muestra, dejar descansar al animal e intentarlo un tiempo más tarde. Otra advertencia a tener en cuenta, en el caso de *D. albiventris*, es el especial cuidado que deberá tenerse con respecto a la secreción externa de las glándulas para-anales,

secreción de olor penetrante y desagradable, que además es potencial transmisora de *Trypanosoma cruzi*, según Deane y col. (1984).



**Figura 6. 3.**

Se muestra la técnica de manipulación. Se toma al animal por la cola y se utiliza un bastón intermediario para distraerlo y que se afirme a él.

3. Una vez colocado el animal en esa posición, el operador procede al tomado de la muestra con la ayuda de una espátula de material plástico, confeccionada ad-hoc, frotándola sobre la mucosa vaginal (**Fig. 6. 4.**).
4. La muestra así obtenida se extiende rápidamente sobre un portaobjetos y se fija en alcohol o en alcohol-éter (ana-ana) por un período no menor a 30 minutos. La velocidad en realizar el extendido e introducirlo en el fijador es muy importante. Si el procedimiento se demora se deseca el preparado y toma coloraciones equívocas.
5. Para el teñido de las muestras se utiliza la técnica de Papanicolaou (1954), simplificada por nosotros
6. Una vez secas las muestras, se montan sobre Bálsamo de Canadá y se procede a su interpretación.

En nuestro laboratorio se ha modificado ligeramente la técnica de coloración de Papanicolaou. La comparación entre los pasos de ambas técnicas se pueden observar en la **Tabla 6. I.**



**Fig. 6. 4.**

Modo de manipular un ejemplar de *L. crassicaudata* para la obtención de muestras con el fin de realizar frotis de citología vaginal exfoliativa. Note la posición del animal, la exposición del orificio aun-urogenital y la espátula *ad-hoc* utilizada.

**Tabla 6. I.**

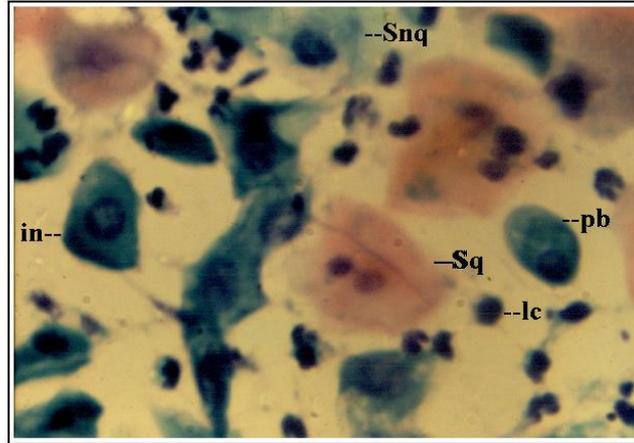
Comparación de los pasos de la técnica original de Papanicolaou (1954) comparada con la propuesta por el autor.

<b>Técnica tradicional de Papanicolaou</b>	<b>Técnica modificada en nuestro laboratorio</b>
1. lavado con agua corriente	1. Lavado con agua corriente
2. lavado con agua destilada	2. Lavado con agua destilada
3. Sumergir el portaobjetos con la muestra en Hematoxilina durante 5 min.	3. Coloración con hematoxilina durante 2 o 3 minutos
4. Lavar con agua común (10 baños)	4. Lavado con agua corriente
5. Sumergir en solución saturada de carbonato de Litio (hasta que la muestra se tome de color azul)	5. Pasaje por ácido clorhídrico 0,25 % durante 2 a 3 segundos
6. Lavar con agua común (10 baños)	6. Lavado con agua corriente durante 5 min.
7. Lavar con agua destilada	7. Lavado con agua destilada
8. Lavar con alcohol del 70 %	8. Pasaje por alcohol 96°
9. Lavar con alcohol del 80 %	9. Coloración con OG durante 2 o 3 minutos
10. Lavar con alcohol del 96 %.	10. Pasaje por alcohol 96°
11. Sumergir en colorante OG-6 durante 5 min.	11. Sumergir en colorante EA durante 2 o 3 min.
12. Lavar con alcohol de 96° (10 baños)	12. Pasaje por alcohol 96°
13. " " " " " " " "	
14. Sumergir en colorante EA 50 durante 5 min.	
15. Deshidratar con alcohol del 96 %	
16. Deshidratar con alcohol del 96 %	
17. Deshidratar con alcohol absoluto durante 5 min.	
18. Deshidratar con partes iguales de alcohol absoluto y Neo-Clear® o xileno	
19. Secar	13. Colocación de las muestras en posición

**Resultados:**

Las muestras así obtenidas y procesadas presentaron abundante contenido celular. Se pudieron identificar los distintos tipos celulares que van predominando en las diferentes etapas del ciclo estral, tanto de *D. albiventris* como de *L. crassicaudata*.

Los distintos tipos celulares visualizados y sus características se pueden observar en la **Figura 6. 5.** y en la **Tabla 6. II.**



**Figura 6. 5.**

Fotomicrografía de frotis vaginal de *Lutreolina crassicaudata* en fase de metaestro, donde pueden verse los diferentes tipos celulares.

**in:** célula intermedia; **lc:** leucocito polimorfo nuclear; **pb:** célula parabasal; **Sq:** célula superficial queratinizada; **Snq:** célula superficial no queratinizada .

Aumento: 400x.

**Tabla 6. II.**

Denominación y características morfológicas y tintoriales de las células halladas en las muestras de citología vaginal exfoliativa.

TIPO CELULAR	ABREVIATURA	CARACTERÍSTICAS CELULARES
Superficiales queratinizadas	CSq	Grandes, con bordes irregulares, plegadas y replegadas, transparentes, color rosado o anaranjado, generalmente sin núcleo.
Superficiales no queratinizadas	CSnq	Grandes, con bordes irregulares, plegadas y replegadas, levemente transparentes, color celeste o celeste verdoso, con o sin núcleo.
Intermedias	CI	Redondeadas u ovoides, algo más pequeñas que las anteriores, bordes muy regulares, color celeste o celeste verdoso, con núcleo, alta relación citoplasma/núcleo.
Parabasales	CPb	Redondeadas, pequeñas, bordes muy regulares, color celeste o celeste verdoso, con núcleo, baja relación citoplasma/núcleo.
Leucocitos (polimorfonucleares)	Lc	Muy pequeños, semejan puntos oscuros enca denados entre sí, diseminados por todo el preparado en medio de las células anteriores.

## **B. Caracterización de los diferentes períodos del ciclo estral de las especies en estudio.**

### **Introducción:**

Se puede decir que un animal de laboratorio es “tradicional” cuando su uso está generalizado, se conocen perfectamente sus parámetros clínico-fisiológicos de referencia y está normalizado su sistema de crianza bajo condiciones de bioterio con el fin obtener y mantener líneas o cepas con historia reproductiva confiable.

Muchas especies silvestres están en vía de ser consideradas “de laboratorio”, pero la insuficiente información sobre los parámetros antedichos hace que se los considere Animales de Laboratorio No Tradicionales.

Una de las mayores dificultades a las que se enfrentan los bioteristas e investigadores es conseguir reproducción en cautividad de estas nuevas especies. Este logro es de fundamental importancia para obtener animales de edad y características parentales conocidas.

Para alcanzar resultados satisfactorios en este aspecto es necesario partir de un conocimiento previo de datos: anatómicos, fisiológicos, comportamentales y ecológicos de las especies en estudio, a fin de establecer las pautas del mantenimiento en cautividad y su posterior adaptación a las condiciones de bioterio de las especies en estudio.

### **Metodología.**

El presente trabajo tiene por objeto caracterizar las diferentes fases del ciclo estral, mediante el estudio de las diferencias porcentuales de las distintas células, obtenidas por citología vaginal exfoliativa, de dos especies de marsupiales autóctonos de nuestro país: la zarigüeya overa o picaza (*Didelphis albiventris*) y el coligrueso o zarigüeya colorada (*L. crassicaudata*) con el objeto de establecer el momento oportuno para el apareamiento programado.

El diagnóstico de cada etapa del ciclo estral se establece de acuerdo a las proporciones de los distintos tipos de células presentes en el extendido, clasificadas de acuerdo a su morfología y a su afinidad tintorial. La relación entre los diferentes tipos celulares establece índices (Schutte, 1967). Se ha modificado la naturaleza de estos índices a fin de facilitar la labor.

**Índice de células superficiales (ICS)** (Schutte, 1967).

$$\text{ICS} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de células S ( Q + nq )}}{\text{N}^\circ \text{ de células I + Pb}}$$

El ICS sirve para diferenciar períodos con altos porcentajes de células superficiales (proestro y metaestro). Existe un probable descenso del índice en el post-coito.

**Índice de células superficiales modificado\* (ICS\*)** (modificado por los autores).

$$\text{ICS}^* = \frac{\text{N}^\circ \text{ de células S ( Q + nq )}}{\text{N}^\circ \text{ de células totales}} \times 100$$

En nuestro caso las células superficiales totales se dividieron por el número total de células, estableciéndose luego el porcentaje:

**Índice acidófilo (IA)** (Schutte, 1967).

$$\text{IA} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de células Sq}}{\text{N}^\circ \text{ de células no queratinizadas (CPb + CI + CSnq)}}$$

El Índice Acidófilo indica el grado de queratinización del tracto reproductivo. Representa el período de mayor proliferación del tracto reproductivo. Está directamente correlacionado con el pico máximo de estrógenos, el de hormona luteinizante (LH) y la consecuente ovulación posterior.

**Índice acidófilo modificado\* (IA\*)** (modificado por los autores).

$$\text{IA}^* = \frac{\text{N}^\circ \text{ de células Sq}}{\text{N}^\circ \text{ de células totales}} \times 100$$

En nuestro caso fue modificado dividiendo las células superficiales queratinizadas por el número de células totales, estableciéndose luego el porcentaje.

Los animales en estudio corresponden a la Colonia de Marsupiales y Armadillos ya citada y estaban perfectamente adaptados a la condiciones de bioterio por más de un año.

Las características ambientales ya mencionadas (Iodice, 1987, Iodice y col. 2007) se encuentran resumidas en la **Tabla 6. III**.

**Tabla 6. III.**

Resumen de las condiciones macro y microambientales ya descritas en el capítulo de instalaciones.

<b>Iluminación</b>	Natural o L : O = 8 : 16
<b>Temperatura</b>	No menor a 20 ° C
<b>Jaulas</b>	<i>Didelphis albiventris</i> : <ul style="list-style-type: none"><li>• Individuales de alambre de 44x32x25 cm.</li><li>• Baterías de reproducción (metálicas)</li><li>• Semicautividad</li></ul> <i>Lutreolina crassicaudata</i> : <ul style="list-style-type: none"><li>• Individuales de alambre de 44 x 32 x 25 cm.</li><li>• Individuales de cemento de 153 x 90 x 43 cm con tapas de alambre tejido.</li></ul>

La forma de manipular los animales para la toma de muestra, si bien al principio parece engorrosa, resulta sencilla luego de cierto entrenamiento. Se utilizan guantes de goma o cuero impermeable (tipo industriales) y un bastón intermediario (recto o con una pequeña horqueta en su extremo distante). Si bien ya fue señalada la técnica, resulta prudente recordarla (**Figura 6. 2.** y **6. 3.**):

- Se toma a los animales por la cola desde dentro de la jaula y se los extrae de la misma permitiendo que se aferren al bastón.
- Se permite que el animal se aferre con sus patas delanteras a los alambres de la jaula.
- Se eleva levemente la cola y queda expuesto el orificio uro-ano-genital.
- Se toma la muestra con una espátula de plástico ad-hoc, frotándola sobre la mucosa de las paredes laterales de la vagina.
- Se vuelve rápidamente el animal a su jaula e inmediatamente se extiende la muestra sobre un portaobjetos (esto último con la mayor celeridad).
- Con la misma presteza se introduce el portaobjetos en el fijador, compuesto por alcohol o alcohol/éter (ana-ana).
- Se fija por no menos de 30 minutos.
- Se procede a la coloración de Papanicolaou (1954) modificada por los autores citada precedentemente (**Tabla 6. I.**).

Una vez secas las muestras, se montan sobre Bálsamo de Canadá y se procede a su interpretación.

**Resultados.**

Una vez terminada la preparación se procede al diagnóstico del extendido. Se van a observar los celulares descriptos en la **Tabla 6. II.**

Los siguientes son los diferentes estadios del ciclo y los distintos tipos celulares que los caracterizan.

- **Proestro:** los porcentajes de células superficiales queratinizadas y no queratinizadas son similares, escasas células intermedias y nulas parabasales.
- **Estro:** el predominio de las células superficiales es casi total.
- **Metaestro:** predominan las células superficiales no queratinizadas, disminuyen las células superficiales queratinizadas al tiempo que aumentan las células intermedias.
- **Diestro / Anestro:** predominio casi completo de las células parabasales con escasa cantidad de células intermedias, vestigios de células superficiales queratinizadas y no queratinizadas.

Los resultados obtenidos por medio del índice porcentual de células queratinizadas se observan en la **Tabla 6. IV** y en las **Figuras 6. 6. a. b. c. d. e.**

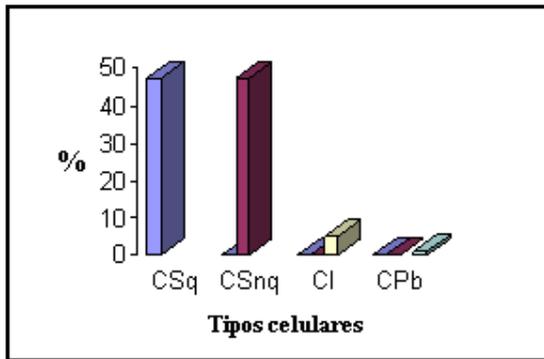
**Tabla 6. IV.**

Porcentaje de los diferentes tipos celulares hallados en la citología vaginal exfoliativa, según las fases del ciclo estral.

FASE	CSQ	CSNQ	CI	CPb
<b>Proestro</b>	40-60 % (+++)	40-60 % (+++)	Aisladas (+)	Ausencia (-)
<b>Estro</b>	80-90 % (++++)	10-20 % (++)	Aisladas (+)	Ausencia (-)
<b>Metaestro</b>	20-30 % (++)	40-50 % (+++)	20-30 % (++)	Aisladas (+)
<b>Diestro / anestro</b>	Aisladas (+)	Aisladas (+)	20-25 % (++)	70-80 % (++++)

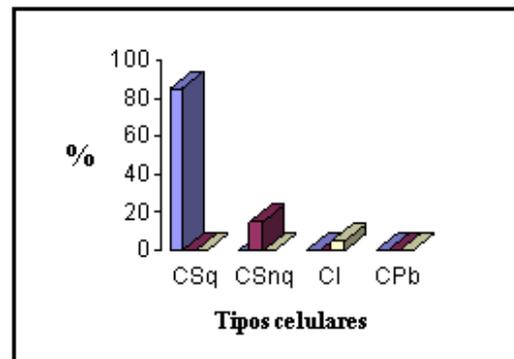
**CSQ:** células superficiales queratinizadas  
**CSNQ:** células superficiales no queratinizadas

**CI:** células intermedias  
**CPb:** células parabasales  
**Aisladas:** menos de 5%



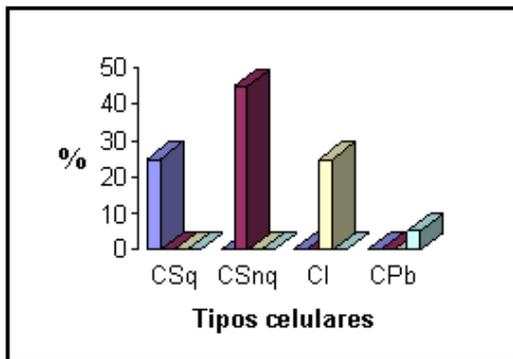
**Figura 6. 6. a.**

Proporción relativa de los distintos tipos celulares durante el Proestro.



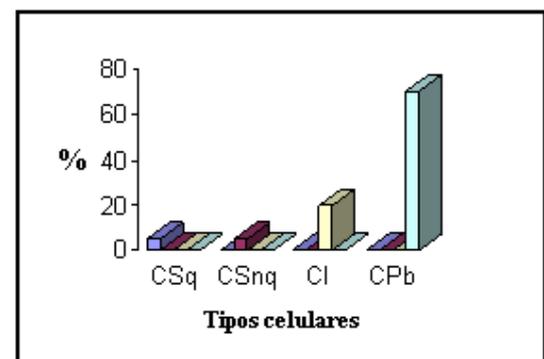
**Figura 6. 6. b.**

Proporción relativa de los distintos tipos celulares durante el Estro.



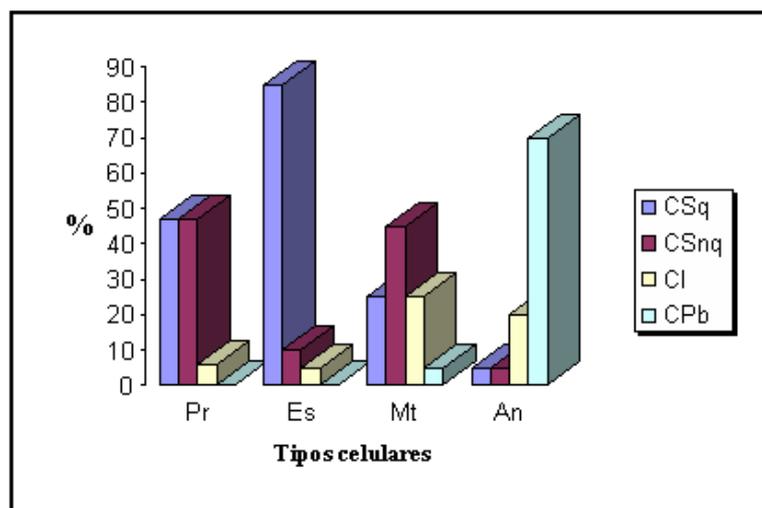
**Figura 6. 6. c.**

Proporción relativa de los distintos tipos celulares durante el Metaestro.



**Figura 6. 6. d.**

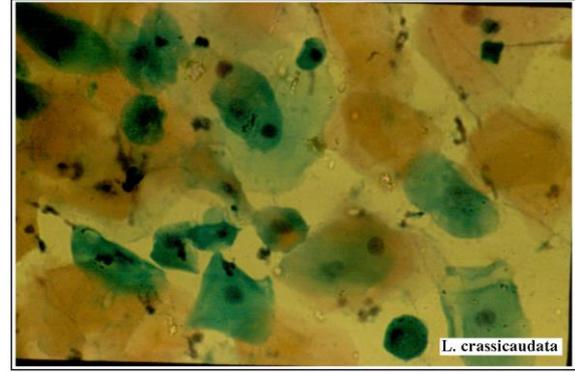
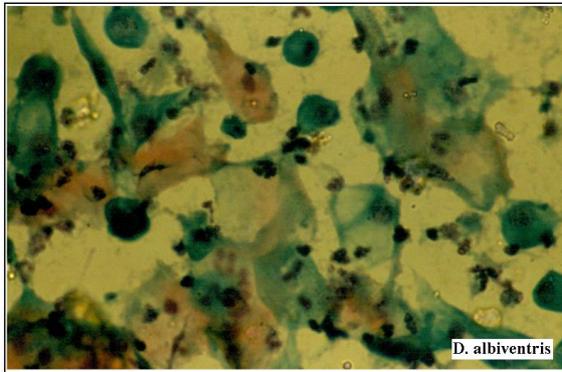
Proporción relativa de los distintos tipos celulares durante el Diestro / Anestro.



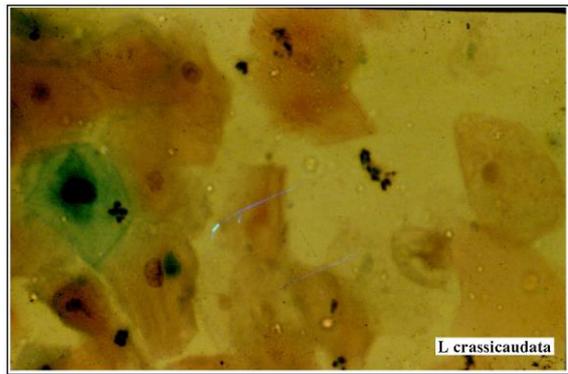
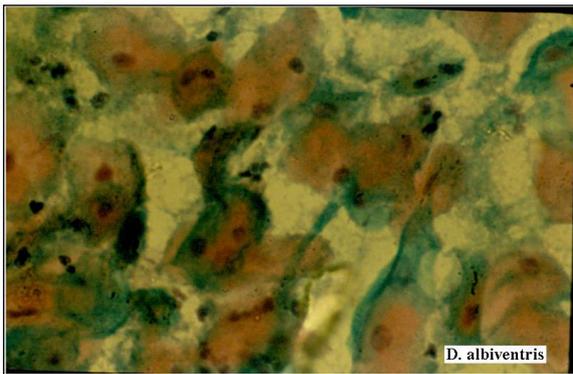
**Figura 6. 6. e.**

Proporción relativa de los distintos tipos celulares durante los distintos estadios del ciclo.

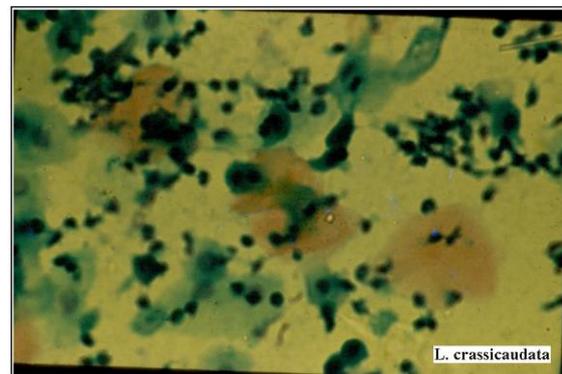
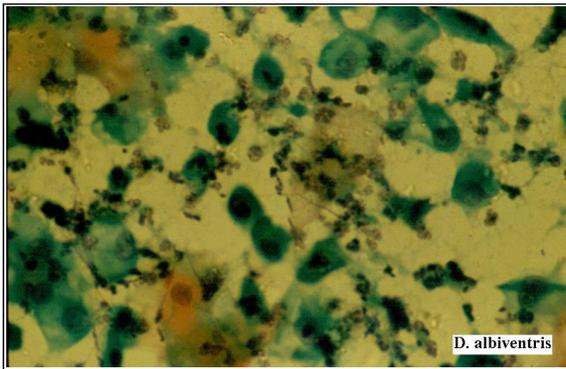
El las **Figuras 6. 7. A. B. C. D.** se puede observar visiones típicas de las diferentes fases del ciclo estral, tanto de *D. albiventris* como de *L. crassicaudata*. Las características de los diferentes tipos celulares pueden consultarse en la **Figura 6. 5.** y **Tabla 6. II.**



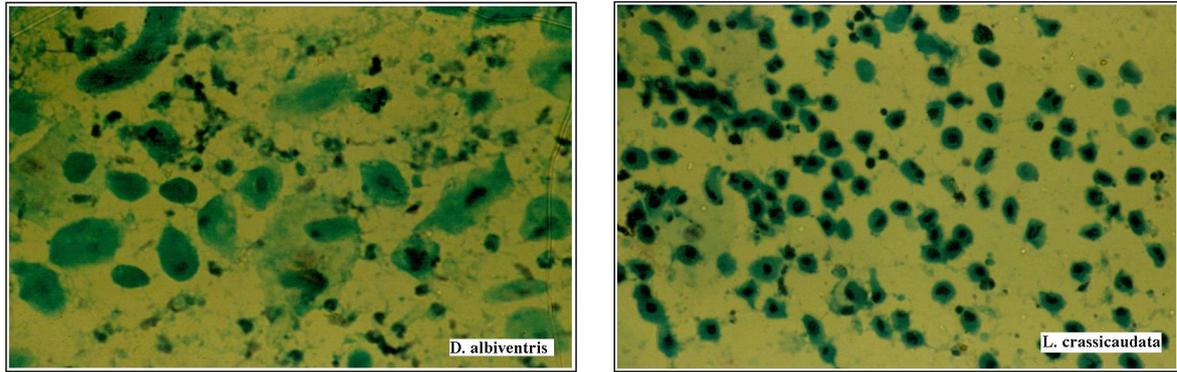
**A.** Proestro. Abundan las células superficiales queratinizadas (CSq) y no queratinizadas (CSnq).



**B.** Estro. Predominan notoriamente las células superficiales queratinizadas (CSq).



**C.** Metaestro. Abundan las células superficiales queratinizadas (CSq) y no queratinizadas (CSnq), con notable presencia de células intermedias (CI) y algunas células parabasales (CPb).



**D.** Diestro. Predominancia absoluta de células parabasales (CPb) con presencia notable en algunos casos de células intermedias (CI).

**Fig. 6. 7.**

Microfotografías representativas de las distintas fases del ciclo estral de *D. albiventris* y *L. crassicaudata*.  
Aumento 400 x.

### **C. Apareamiento programado de las especies en estudio.**

#### **Introducción.**

Manteniendo el objetivo de generalizar el uso de las Zarigüeyas en la investigación biomédica, resulta indispensable la obtención de crías bajo las condiciones de bioterio descritas.

Conseguir la reproducción en cautividad de nuevas especies de ALNT bajo las restringidas condiciones de bioterio, es una de las mayores dificultades a las que se enfrentan los bioteristas e investigadores.

La necesidad iniciar un plan que garantice la definición genética los animales de la colonia requiere la obtención de ejemplares de edad y filiación conocida. Esto hizo imprescindible establecer la factibilidad de obtener reproducción en las condiciones descritas y mediante apareamientos programados.

#### **Metodología.**

Se utilizaron 20 hembras (10 *D. albiventris* y 10 *L. crassicaudata*) y 8 machos (4 de cada especie). Estos animales estaban adaptados al cautiverio y habían permanecido en la Colonia por más de un año. La experiencia se realizó durante la estación primaveral.

Los ejemplares fueron manipulados con guantes protectores y bastones intermediarios. La alimentación y las condiciones sanitarias correspondieron a las indicadas en el **Capítulo 5: Condiciones de alojamiento.**

Las jaulas utilizadas según especie y sexo de los ejemplares en estudio fueron descritas precedentemente en este capítulo.

Para determinar la fase del ciclo estral se procedió a la realización de extendidos de muestras de la mucosa vaginal.

El procedimiento para realizar la toma de muestra se describió en el apartado:

**A. Nueva técnica para el estudio de la citología vaginal exfoliativa en zarigüeyas. (*Marsupialia, Didelphidae*).**

Se determinaron las distintas fases del ciclo mediante las características morfológicas y tintoriales de las células encontradas, tal como se describió en el apartado:

**B. Caracterización de las fases del ciclo estral de dos marsupiales americanos: *Didelphis albiventris* y *Lutreolina crassicaudata* (*Marsupialia, Didelphidae*).**

A partir del diagnóstico de la fase de Proestro-Estro se colocó al macho con la hembra y se los mantuvo juntos en el mismo compartimiento durante un lapso que osciló entre los 12 y 18 días. El límite de ese lapso fue determinado por la presencia de “larvas” dentro del marsupio durante las inspecciones diarias. Deseamos aclarar que el uso del término larva fue originado por la propuesta de Grassè (1980) para referirse a los recién nacidos mientras están en proceso de desarrollo dentro de la marsupia. Al producirse el nacimiento, el macho era trasladado a su jaula original.

**Resultados.**

En las condiciones de cautiverio enunciadas precedentemente y durante los 3 años y medio de la experiencia, hemos obtenido resultados satisfactorios. Esto se evidenció en la ausencia de mortandad, el excelente estado de salud, el buen crecimiento, la falta de signos clínicos de deficiencias nutricionales en los animales.

Mediante los procedimientos antes descritos se determinaron las fases del ciclo estral en ambos marsupiales americanos, se realizaron apareamientos programados y se obtuvo reproducción y posterior desarrollo de las crías nacidas en todos los ensayos realizados.

Los apareamientos programados se realizaron cuando el índice acidófilo de la citología vaginal exfoliativa superaba el 80%. En los casos de *D. albiventris* se abrió la compuerta que separaba al macho de la hembra en las baterías de reproducción o se llevaron los machos a las jaulas de semicautividad, dependiendo de la estrategia experimental elegida. En el caso de *L. crassicaudata* las hembras estaban alojadas en los

compartimentos de cemento y los machos eran introducidos en el momento oportuno. En todos los casos se les colocaba dentro de las jaulas dos receptáculos para que pudieran usarlo como “nido” en forma individual. Tanto en *Lutreolina* como en *Didelphis* se observó que hembra y macho permanecían por la noche en el mismo nido durante 3 a 4 días posteriores a haber sido colocados juntos, usando en todos los casos el nido de la hembra. Pasado dicho período se alojaban en diferentes nidos, no intercambiándolos.

Cabe señalar que todas las hembras en experimentación quedaron preñadas. Luego de haber juntado las parejas se observó la presencia de larvas entre los 12 y 15 días posteriores a dicho evento, tanto en el caso de la zarigüeya overa como de la colorada. Esto permitió hacer una estimación aproximada del período de gestación, en alrededor de 12 días (**Fig. 6. 8.**).

Las larvas nacidas, cuyo número osciló entre cinco y once, permanecieron dentro de la marsupia durante aproximadamente seis semanas adheridas permanentemente a sus respectivos pezones.



**Fig. 6. 8.**

Fotografía donde se observan crías de pocos días de nacidas en el interior del marsupio de un ejemplar de *L. crassicaudata*.

Al término de las seis semanas y en un lapso de 24 horas, las crías comenzaron a soltarse y deambular por la jaula materna. Durante un lapso también de seis semanas se mantuvieron lactando con vida independiente, entrando y saliendo de la bolsa, pero siempre asociadas a la madre, tal como lo hacen los mamíferos euterios. En este último período, en los momentos de descanso, podían vérselas sobre su madre, al lado y debajo de ella o semiocultos dentro del marsupio.

Pasados estos dos períodos, fueron destetadas y alojadas en jaulas individuales (Fig. 6. 9.). Todas alcanzaron el estado adulto y se incorporaron a la Colonia para diversos proyectos experimentales.



**Fig. 6. 9.**

Fotografía de dos crías de *D. albiventris* recién destetadas caminando sobre una de las baterías de reproducción.

Se realizaron curvas de crecimiento para machos y hembras de tres camadas de crías de *L. crassicaudata*. Los resultados serán reportados en el **Capítulo 7: Estudios de crecimiento**.

### **6. 3. 2. Consideraciones finales de esta sección.**

A fin de lograr una más clara descripción y comprensión de las Consideraciones finales, las mismas se realizarán respetando el orden de las etapas de trabajo propuestas anteriormente en la sección de objetivos.

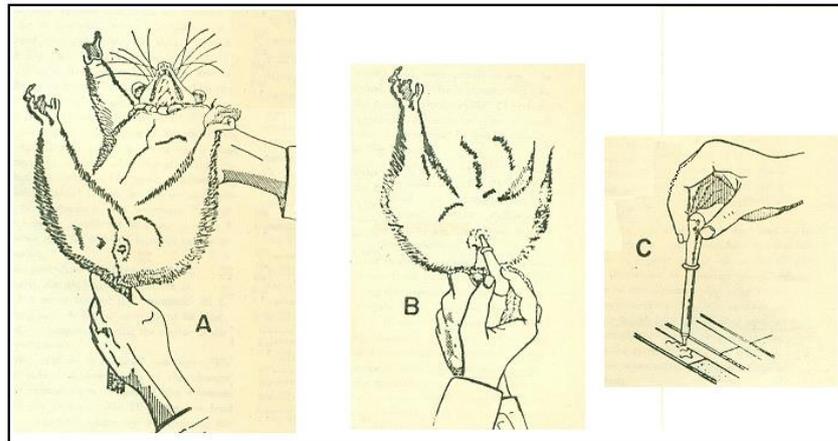
#### **Consideraciones finales I.**

##### **A. Establecimiento de una técnica confiable para el estudio del ciclo reproductivo de las especies de interés en esta Tesis.**

Los autores clásicos citados proponen la toma de muestra por lavaje vaginal mediante el uso de un gotero, introduciendo una pequeña cantidad de solución fisiológica y absorbiendo luego el líquido resultante (Jurgelski Jr. 1974; Jurgelski Jr. y Porter, 1974) (Fig. 6. 10. A., B. y C.). Otros proponen la toma con un hisopo de algodón (Papanicolaou, 1942) (Fig. 6. 11.).

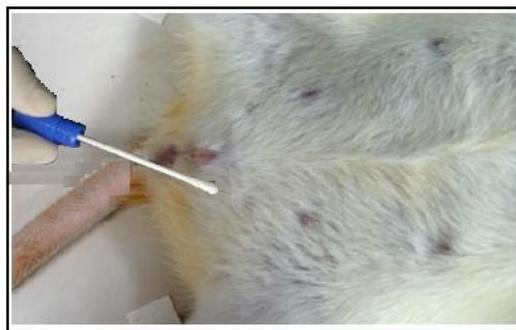
En nuestro laboratorio se ha observado que estas técnicas resultan poco recomendables por algunas de las siguientes razones:

- es una maniobra peligrosa si se usan goteros de vidrio, no así si es de plástico.
- el material obtenido resulta muchas veces insuficiente, queda parte retenido dentro del gotero, tanto si este es de vidrio como de plástico.
- requiere de dos operadores según los autores Jurgelski Jr. y Porter (1974).
- el material aparece muchas veces sumamente contaminado (utilizando hisopo), no olvidemos que se esta tomando la muestra a partir de un orificio ano-uro-genital, no de un antro vaginal propiamente dicho.



**Fig. 6. 10.**

Esquema de la técnica propuesta por Jurgelski (1974) y Jurgelski y Porter (1974) para la toma de muestra vaginal, donde se destaca la presencia de dos operadores.  
**A.** Modo de sujeción de la zarigüeya. **B.** Lavaje con solución fisiológica y posterior absorción con un gotero.  
**C.** Depósito del material extraído sobre un porta para fijación.



**Fig. 6. 11.**

Fotografía de la técnica del hisopado para la toma de muestra vaginal, en este caso en una rata.

Nuestro trabajo propone utilizar una espátula de material plástico flexible, confeccionada *ad-hoc*, de 3 a 5 mm de ancho, 1 mm de espesor y 50 a 60 mm de largo, con bordes romos (**Fig. 6. 4.**).

El método propuesto por nosotros posee las siguientes ventajas:

- bajo costo del material,
- más higiénico por usar materiales descartables y/o de fácil lavado,
- se obtiene abundante material para estudio,
- mayor seguridad, tanto para el animales como para el operador, dado que no se corre el peligro de rotura del material de vidrio al tomar la muestra, y
- mayor simplicidad y practicidad dado que lo realiza un solo operador

Con respecto a la técnica de coloración:

- La complejidad en la decoloración de la técnica de Papanicolaou apunta a establecer las alteraciones que se producen dentro del núcleo celular a fin de determinar precozmente tendencias neoplásicas.

La modificación propuesta:

- busca establecer exclusivamente la morfología de las células y su afinidad por los colorantes, sin necesidad de clarificar el interior nuclear.
- evita el uso de diferentes gradaciones de alcohol y el alto número de baños en cada uno de ellos
- resulta más práctica y rápida

La desecación del preparado al prolongarse el período de extendido e introducción en el líquido fijador, suele producir la adopción de coloración rosada o anaranjada de casi la totalidad de las células presentes. La presencia de células intermedias y/o parabasales de este color dará la pauta de un error en la técnica ya que por su disposición en el espesor de la mucosa no pueden estar queratinizadas.

Se considera que las modificaciones propuestas, tanto a la toma del material como a la técnica de coloración permiten obtener muestras confiables y resulta una técnica menos laboriosa. La propuesta es utilizable tanto en condiciones de laboratorio como en el trabajo a campo. También resulta adaptable para ser utilizada en especies animales de similar porte. Cabe aclarar que las muestras fijadas bajo las condiciones precedentes pueden mantenerse en óptimas condiciones por largo tiempo antes del coloreado en el laboratorio.

## **Consideraciones finales II.**

### **B. Caracterización de los diferentes períodos del ciclo estral de las especies en estudio.**

Los tipos celulares encontrados en los extendidos, en cuanto a morfología y tinción, no presentaron diferencias observables entre las especies de *D. albiventris* y *L. crassicaudata*.

Se puede considerar que superando el 80 % de células superficiales queratinizadas se esta en la fase de Estro, con reciente ovulación. Ciertos momentos del Proestro y del Metaestro presentan porcentajes celulares similares, sobre todo en el conteo de células superficiales queratinizadas y no queratinizadas. Esto se debe a que se establece un cambio gradual de mayor a menor en las no queratinizadas y de menor a mayor en las queratinizadas en el proestro y a la inversa en el metaestro. La forma de establecer el crecimiento o disminución de los diferentes porcentajes se establece por un muestreo seriado de no menos de tres momentos muestrales, así se identificará el sentido de la pendiente. Otro dato suplementario es que durante la fase de Metaestro se observan una mayor cantidad de leucocitos polimorfonucleares. Esto puede atribuirse a una respuesta de defensa inmunitaria inespecífica previendo el contacto de apareamiento (Schutte, 1967).

Estudios preliminares aún no concluidos, acerca de la duración de cada fase, hacen suponer que la duración del ciclo estral de *D. albiventris* tiene una duración promedio de 23,5 días ( $\pm 3$  días), lo cual no difiere con lo establecido por Jurgelski y Porter (1974) para *D. virginiana*.

## **Consideraciones finales III.**

### **C. Apareamiento programado de las especies en estudio.**

A pesar de las observaciones de Cabrera y Yepes (1960) y Hunsaker y Shupe (1977), no hemos visto agresiones manifiestas entre las zarigüeyas en las instalaciones de la Colonia de Armadillos y Marsupiales descriptas para las etapas reproductivas, sino separación respetando mínimos espacios vitales. Tanto en la baterías de reproducción como en las jaulas de semicautividad.

Si bien es sabida la existencia de un marsupio permanente en el género *Didelphis* (Cabrera y Yepes, 1960; Walker, 1968), se ha puesto en duda su presencia en *Lutreolina*. En su libro, Walker (1968) niega la existencia de una bolsa desarrollada, mientras que en

otra publicación Kirsch (1977) identifica al genero *Lutreolina* como carente de bolsa. La observación de los ejemplares de la Colonia, tanto de las hembras juveniles, como de las preñadas y también de las ya paridas, revela la presencia de un marsupio muy bien desarrollado (**Figura 6. 12**). Esta observación resulta particularmente importante en razón de las contradicciones reportadas por los dos libros que son fuente obligada de información sobre morfología y biología de marsupiales.

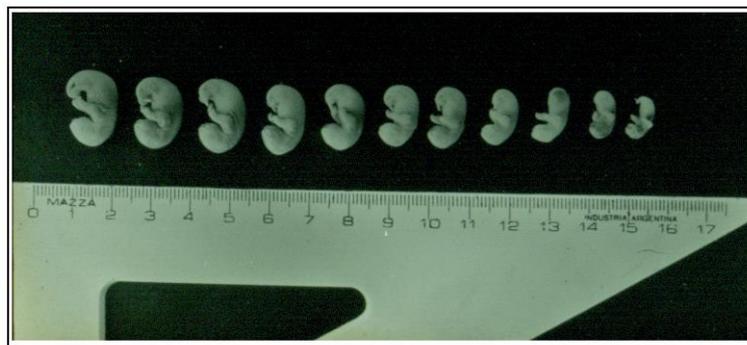


**Figura 6. 12.**

Fotografía donde se observa el marsupio bien desarrollado de una hembra de *Lutreolina crassicaudata* fuera de la estación reproductiva.

Merece señalarse además que en el interior de la marsupia de *Lutreolina* se encuentran 11 mamas abdominales. De éstas, 10 tienen una disposición circular en derredor de una mama central. Esto contrasta con el número de nueve comunicado por Walker (1968).

Las crías recién nacidas son extremadamente pequeñas y nacen con un estado de gran inmadurez ontogénica (**Fig. 6. 13.**).



**Fig. 6. 13.**

Fotografía de once crías de *D. albiventris* desde el primero al decimoprimer día de nacidos.

Acerca de la fijación permanente a cada pezón materno, si por algún motivo se desprenden, no tienen la capacidad de readherirse e irremediablemente mueren.

Durante el segundo período de lactancia donde entran y sales del marsupio para lactar, no se pudo establecer si adoptan siempre el mismo pezón.

A la esta peculiar lactación en dos etapas, una de fijación permanente y la otra con amamantamiento intermitente, proponemos denominarlas:

- **período de lactancia en bolsa** (típica de marsupiales) a las primeras seis semanas y
- **período de lactancia libre** (comparable a euterios) a las segundas seis semanas.

Una observación importante de resaltar, en *D. albiventris*, fue que antes de iniciar este estudio reproductivo se produjeron, en dos oportunidades, nacimiento de un número de crías superior al de glándulas mamarias disponibles. En estos casos fue posible observar, en el día de nacimiento, crías adheridas a pelos del interior de la bolsa marsupial como si fueran pezones. En la revisión del día siguiente, dichas crías no fueron encontradas.

Otra observación a resaltar fue que en los primeros nacimientos de *D. albiventris* que se dieron en la Colonia se observó en dos oportunidades el desarrollo de canibalismo de las crías con respecto a la madre. Las camadas eran de cinco y seis crías. Esto sucedió al no destetar a tiempo las camadas, permaneciendo éstas por más de seis semanas en lactancia libre. No tenemos claro el motivo de este comportamiento. Se sospecha que el tamaño de la camada y/o la necesidad de espacio vital desencadenaron esta conducta.

El criterio adoptado de destetar luego de 12 semanas de lactancia (seis semanas de **lactancia en bolsa** más seis de **lactancia libre**), se adoptó en base a la observación de canibalismo ya relatada. Sumada a los hechos que las crías ya habían comenzado a compartir la comida sólida de la madre y la notable disminución anatómica y funcional de las glándulas mamarias de la madre.

La razón por la cual las crías destetadas se llevaron a jaulas individuales y no se realizó un desmadre previo, como el realizado en *Chaetophractus*, es por los antecedentes de agresión y canibalismo antes descriptos.

Se ha observado, en la Colonia, que siendo el tiempo de duración de la gestación más el de amamantamiento (tanto el fijo en la marsupia como el ambulatorio) superior a la amplitud del ciclo estral, las zarigüeyas suelen tener una camada por estación reproductiva.

Sin embargo aquellas hembras que quedan preñadas a inicio de la temporada reproductiva tienen oportunidad de una segunda preñez y así tener dos pariciones por estación.

Lo expuesto hasta aquí evidencia que el mantenimiento, manipulación, reproducción y desarrollo de *D. albiventris* y *L. crassicaudata* en condiciones de Bioterio son factibles.

La metodología utilizada nos permitió arribar con éxito a nuestro objetivo de ofrecer un nuevo modelo experimental adaptado a las condiciones de laboratorio.

Queda así allanado gran parte del camino para que bioteristas e investigadores los adopten definitivamente como modelos experimentales.

Ante estos resultados positivos, recalamos que la no adopción de una batea con agua para natación de ningún modo impidió la reproducción en condiciones de cautiverio.

Este conjunto de procedimientos los seguimos aplicando en la actualidad en los ejemplares utilizados para investigación en el Instituto de Neurociencia de la Facultad de Medicina de la Universidad de Morón.

## **Capítulo 7:**

### **Estudios de crecimiento de Armadillos y Zarigüeyas en condiciones de bioterio.**

#### **7. 1. Introducción.**

Los Armadillos y Zarigüeyas han sido usados desde hace mucho tiempo como modelos experimentales en diversas áreas de las ciencias biomédicas. Muchas de sus características anatómicas, fisiológicas y comportamentales y su particular posición filogénica han hecho que los investigadores adopten estos animales para las más diversas experiencias.

En el caso de los Armadillos, son varios los autores que han propuesto pautas para su cría en condiciones de laboratorio (Talmage y Buchanan, 1954; Anderson y Benirschke, 1966; Wampler, 1969; Blair Jr, 1970; García de Osmá, 1972; Gilbert y Giacometti, 1972; Storrs y Greer, 1973; Baliña y col., 1980). En nuestro país se ha propuesto, desarrollado y adoptado, particularmente *Chaetophractus villosus*, como modelo en estudios neurobiológicos y comportamentales (Affanni, 1972; Affanni y García Samartino, 1984; Campagna y col. 1984; Papini y col. 1984; Iodice, 1987; Iodice y Affanni, 1988 b; Cervino 1999).

Por su parte las Zarigüeyas (denominada *opossum* en inglés) también han sido objeto de estudio y desarrollo, tanto en nuestro país como en otras partes del mundo (Moore y Bodian, 1940; Krupp y Quillin, 1964; Sherwood, 1969; Jurgelski, 1974; Jurgelski y col., 1974; Jurgelski y Porter, 1974; Jurgelski, 1979; Dezone Motta y col., 1983; Petersen y col. 1984; Iodice y col. 1985; Iodice, 1987; Iodice, 1988; Iodice y Affanni, 1988 a).

Todo modelo animal experimental no tradicional presenta problemas para su mantenimiento y crianza en condiciones de Bioterio y requiere de pautas confiables para su solución. Una de las mayores dificultades a las que se enfrentan los bioteristas e investigadores al usar nuevas especies animales como modelos biológicos es la de obtener animales de edad y características parentales conocidas, así como la de estimar la ganancia de peso acorde a su edad y velocidad de crecimiento.

El crecimiento individual de los ejemplares merece especial atención, para establecer un manejo adecuado de la Colonia.

Tanto el **crecimiento** como el **desarrollo** corporal son procesos que resultan de una serie de cambios anatómicos y fisiológicos complejos que ocurren en el organismo animal. Muchas veces se confunden ambos términos y son tratados como sinónimos, siendo que el **crecimiento** y el **desarrollo** son fenómenos separados, aunque pueden plantearse algunas dificultades al definirlos.

Según Fowler (1968) el **crecimiento** tiene dos aspectos. El primero es el aumento de masa (peso) a través del tiempo. El segundo son los cambios en la forma y composición del cuerpo debido al crecimiento diferencial de las partes componentes del cuerpo.

Sin embargo, me parecen más acertadas las consideraciones de Bavera y col. (2005) quienes rescatan postulaciones de Hammond (1960), quien entiende por **crecimiento** el aumento de peso experimentado por los animales desde el nacimiento hasta su estabilización en la edad adulta, y por **desarrollo** las modificaciones que experimentan las proporciones, conformación, composición química corporal y funciones fisiológicas del animal a medida que avanza la edad. Estos procesos, en general, se producen simultánea y armónicamente, aunque es posible que un individuo aumente su largo y alto (**desarrollo**) sin experimentar alteraciones en su peso (**crecimiento**) o un individuo adulto (**desarrollo** completo) aumente su peso por engorde (**crecimiento**).

El grado de crecimiento y desarrollo están definidos para la edad adulta de cada especie. Está sujeto a la herencia, variabilidad individual y nutrición e implica que debe producirse un crecimiento y desarrollo completo y coordinado de todas y cada una de sus partes, fenómenos que requieren un gran número de procesos. Estos conceptos son válidos tanto para el crecimiento intrauterino como para el extrauterino. La **velocidad de crecimiento** de un animal depende fundamentalmente de su edad, de su peso adulto y del sexo (Bavera y col., 2005).

Las hormonas anabólicas (que favorecen el crecimiento) son:

- a. **Somatotrofina (HST)**, es secretada por el lóbulo anterior de la hipófisis es normalmente llamada hormona del crecimiento porque es la que mayor influencia tiene en el incremento del tamaño corporal. Regula el crecimiento del hueso y del músculo.
- b. **Insulina**, es la hormona anabólica por excelencia, no sólo por ese efecto, sino además porque regula la unión de otras hormonas con sus receptores. Por ejemplo: actúan a nivel de los receptores hepáticos de la **HST**.
- c. **Andrógenos**, tienen marcados efectos sobre el crecimiento de huesos y músculos en ambos sexos. La testosterona, el andrógeno primario, es secretado principalmente por los testículos en los machos y las glándulas adrenales en las hembras. La secreción de

éstos aumenta marcadamente antes de la pubertad y es parcialmente responsable del rápido crecimiento que ocurre en esta etapa. Los machos tienen una más rápida velocidad de crecimiento que las hembras debido a que los testículos producen más andrógenos que las glándulas adrenales.

- d. Estrógenos**, son secretados por los ovarios sirven para el desarrollo del tracto reproductivo en todas las especies.
- e. Glucocorticoides**, son secretados por las glándulas adrenales, pueden causar remoción de nutrientes de las reservas corporales para producir energía resultando en pérdida de peso o descenso de la tasa de ganancia, lo cual no ocurre en animales sanos.
- f. Parathormona**, producida por la paratiroides. Afecta la osificación y desarrollo de los huesos (Bavera y col. 2005).

Brody (1945), considera el crecimiento como el resultado, de la síntesis biológica, lo cual incluye los siguientes mecanismos:

- 1. Hiperplasia:** Crecimiento por aumento del número de células (multiplicación celular).
- 2. Hipertrofia:** Crecimiento por aumento del tamaño celular.
- 3. Acumulación:** Incorporación de materiales (Ej.: grasa, plasma sanguíneo).

Estos tres procesos biológicos pueden ocurrir o no simultáneamente, predominando uno de ellos, según la etapa de crecimiento del individuo. Así, durante la primera fase del crecimiento prenatal (que ocurre entre la fecundación y el parto), hay un predominio de la hiperplasia, incrementándose progresivamente la importancia relativa de la hipertrofia y de la acumulación de materiales (Álvarez Zapata y Benezra S., 2004).

El crecimiento, al igual que cualquier otro proceso biológico está afectado por factores intrínsecos como por factores extrínsecos. Los primeros pueden ser:

- Genéticos,
- Edad,
- Sexo,

los segundos se resumen en:

- Clima,
- Alimentación,
- Manejo,
- Competencia intra e interespecífica (Álvarez Zapata y Benezra S., 2004).

En cuanto a la elaboración de un modelo matemático para estudio del crecimiento, Putter (1920) elaboró uno que puede ser considerado como la base de la mayoría de otros modelos de crecimiento que se han convertido en clásicos de la especialidad, entre ellos los trabajos de von Bertalanffy (1938), Beverton y Holt (1956), Ursin (1968), Ricker (1975), Gulland (1983), Pauly (1984), Pauly y Morgan (1987) y más recientemente en nuestro medio Maroñas (2006).

Sin embargo, estos modelos matemáticos han sido diseñados, preferentemente, para estudios de dinámica poblacional de peces. El crecimiento corporal en los peces presenta ciertas características distintivas, siendo una de las más importantes su plasticidad. El tamaño corporal no tiene una relación estricta con la edad ni tampoco posee un máximo definido. Lo expuesto hace que se marque un claro contraste con respecto a vertebrados superiores (aves y mamíferos) en los que la talla tiene relación con la edad durante las primeras etapas de la vida y alcanzada la madurez el tamaño permanece constante. Una alternativa para usar los clásicos modelos matemáticos al estudio del crecimiento de los vertebrados superiores es una transformación del modelo alométrico a uno isométrico para poder convertir la determinación de la longitud corporal en peso corporal (Maroñas, 2006).

Se postula que la curva de crecimiento para los mamíferos debe tener un patrón general que responda a una forma sigmoidea que alcance valores asintóticos a una cierta edad de la especie. A esta se la denomina curva logística o función logística. Varios modelos intentan describir este crecimiento. Malhado y col. (2008) proponen el uso de varios estadísticos descriptivos no lineales para el estudio de crecimiento en mamíferos (**Tabla 7. I.**).

**Tabla 7. I.**

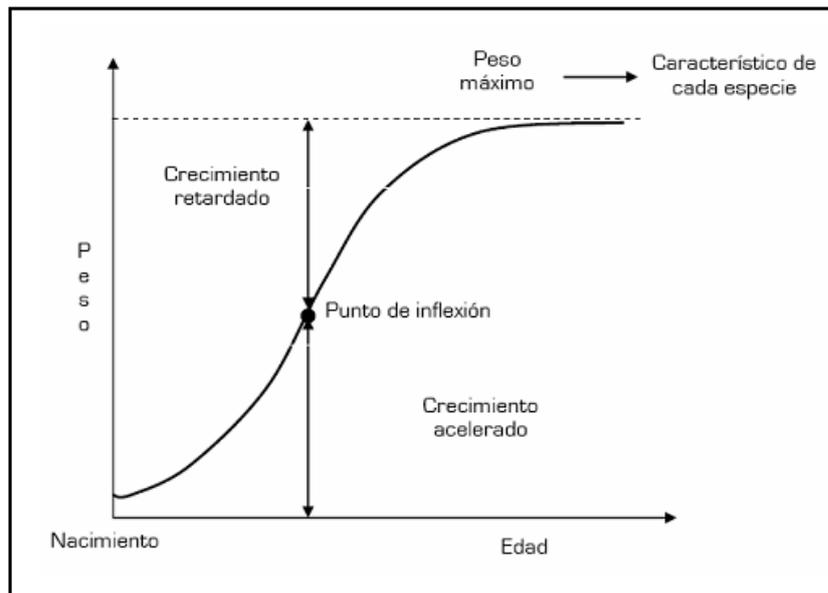
Forma general de los modelos no lineales para medir el crecimiento animal (Tomado de Malhado y col. 2008).

<b>Modelo</b>	<b>Forma general</b>
Brody	$y = A(1 - Be^{-kt}) + \varepsilon$
Von Bertalanffy	$y = - + \varepsilon y A(1 - Be^{-kt})^3$
Richards	$y = A(1 - Be^{-kt})^{-m} + \varepsilon$
Logístico	$y = A(1 + e^{-kt})^{-m} + \varepsilon$
Gompertz	$y = AeBe^{-kt} + \varepsilon$

Por otro lado, varios autores proponen la ecuación de Michaelis-Menten, utilizada ampliamente para describir matemáticamente diversas reacciones químicas, para trazar la curva que permita describir el crecimiento de animales (López y col., 2000; Mazzini y col., 2004; Iglesias y col., 2007).

En todos los casos resulta una curva de crecimiento en **S** o **Sigmoide** (Fig.7. 1.). Al principio la curva presenta un crecimiento lento, luego un crecimiento rápido o exponencial, para finalmente alcanzar un nivel más o menos equilibrado. Puede representarse por un gráfico con tres fases perfectamente visibles:

- Una fase lenta, (I), que es el período inicial de crecimiento lento.
- Fase logarítmica, (II) que es el período de crecimiento exponencial rápido.
- Fase de equilibrio o de estabilización gradual (III). Este es el nivel superior indicado por una constante y representa la asíntota superior de una curva **sigmoide**.



**Fig. 7. 1.**

El gráfico muestra los cambios de peso del organismo con la edad. Representa la curva de crecimiento acumulado, de forma sigmoide y similar a la curva de crecimiento logístico de la población (Tomado de Álvarez Zapata y Benezra S., 2004).

Además de dividir la lectura de la curva en tres etapas según la pendiente que muestra, puede leerse también dividiéndola en dos etapas a partir del punto de **inflexión**. La curva **sigmoidea** característica muestra que durante las primeras etapas del crecimiento, el aumento de masa corporal supera ampliamente a las pérdidas. Esta diferencia entre el aumento y la pérdida de masa animal se mantiene constante durante esta fase y es lineal el incremento de peso con relación a la edad. Sin embargo, cuando el animal se convierte en adulto, las tasas de ganancia y de pérdida muestran un cambio en el equilibrio y la curva que representa el crecimiento se convierte en curvilínea. Es así que se considera al punto de **inflexión** el momento de la **pubertad** (Bavera y col., 2005) .

## 7. 2. ARMADILLO

---

Los estudios acerca de una especie de la que poco se sabe deben incluir aspectos fundamentales de su biología. Entre ellos, el crecimiento individual de los animales merece especial atención, para conseguir una evaluación correcta de la colonia. La curva de crecimiento para los mamíferos suele tener un patrón general, incluyendo una forma sigmoidea que alcance valores asintóticos a una cierta edad de la especie.

En esta parte del **Capítulo** se propone analizar la evolución del crecimiento y aumento de peso de *Chaetophractus villosus* nacidos en cautividad.

### 7. 2. 1. Crecimiento de *Chaetophractus villosus* en condiciones de bioterio<sup>10</sup>

#### **Materiales y método.**

Los animales utilizados pertenecían a la Colonia de Marsupiales y Armadillos del Instituto de Neurociencia (Ineuci–Conicet), ubicada en el Bioterio central de la Facultad de Ciencia Exactas y Naturales (UBA). La especie utilizada fue *Chaetophractus villosus* (peludo).

Para este caso se tomaron las crías nacidas de hembras llegadas a la Colonia ya preñadas, como fue descrito en el **Capítulo 6: Aspectos reproductivos** de esta Tesis.

Las mismas recibieron tratamientos ectoparasitarios en caso de ser necesario a la observación clínica y se les administraban complejos minerales y vitamínicos con el agua de bebida, sobre todo de vitaminas liposolubles (**Capítulo 5: Condiciones de alojamiento**). La alimentación consistió en alimento balanceado para caninos cachorros (**Tabla 5. I y 5. II**) y el agua la recibieron en forma *ad-libitum*. Se les administró endoparasitarios compatibles con la preñez.

Los nacimientos se produjeron en los tanques circulares de cemento (**Figura 5. 3.**). Los mismos eran de 1,5 m de diámetro y 1 m de altura. Se acondicionan con una delgada capa de tierra o pasto en el piso como factor de enriquecimiento. Dentro de los mismos se colocaron cajas rectangulares de madera o metal en forma invertida, sin uno de sus laterales menores, con el objeto de ofrecer un ámbito con oscuridad para ser utilizado como nido. Estos tanques podían oscurecerse adecuadamente según las necesidades experimentales. Los tanques se encontraban dentro de salas.

---

<sup>10</sup> Parte de los datos consignados a continuación fueron reportados en: “Successful procedures for obtaining reproduction of *Chaetophractus villosus* and *Chaetophractus vellerosus* in laboratory conditions”. Iodice y Affanni. 1986. Regional / International Meeting on Laboratory Animals. ICLAS-CEMIB-FESBE., Aguas de Lindia, Brasil. Comunicación: P-2.21.

En estas salas no hubo regulación lumínica ni de humedad. La luz, además de la artificial usada para las tareas de mantenimiento y experimentación, llegaba a través de ventanas convenientemente selladas para evitar el ingreso de animales y/o elementos extraños, por lo que se mantuvo un ciclo lumínico básicamente natural, sin embargo se conservó semioscuridad dentro de los tanques. Las salas fueron calefaccionadas en época invernal o de baja temperatura para que no haya una temperatura menor a los 20 °C.

Fueron estudiadas tres camadas nacidas bajo estas condiciones. Una de las camadas la constituyeron dos machos, las dos restantes estaban conformadas por una hembra y un macho. En el último parto el macho murió dos semanas después del nacimiento. Efectuada la correspondiente necropsia, no presentó signos macroscópicos que indujeran a determinar la causa de su muerte. El resto de los animales se desarrolló satisfactoriamente.

Los recién nacidos se alimentaron exclusivamente con leche materna y en forma natural desde el nacimiento y hasta las 10 a 11 semanas de vida. Se observó que alrededor de esa época compartían la comida de sus respectivas madres.

En ese momento fueron destetadas realizando el **desmadre**. El procedimiento consiste en no retirar las crías de la madre, sino retirar la madre, dejando juntos a los hermanos en el tanque, por un plazo arbitrario de una semana, obviamente este procedimiento no fue necesario en la última camada ya que fue de una sola cría. Luego los hermanos fueron separados y colocados en jaulas individuales. Allí la alimentación consistió exclusivamente en alimento balanceado canino para cachorros tal como se describió **Capítulo 5 de Condiciones de Alojamiento**.

La manipulación de las crías se realizó desde el primer día y fue de lo más laboriosa, tal como fue explicado en el **Capítulo 6: Aspectos reproductivos**.

A lo largo de todo este período se le instauraron cuidados especiales, tales como:

- desinfección del ombligo para prevenir onfalitis,
- administración de complejos minerales y vitamínicos en el agua de bebida de sus respectivas madres y
- observaciones periódicas de su estado clínico general (deshidratación, vitalidad, lesiones superficiales, etc.).

El crecimiento de los *C. villosus* nacidos fue controlado midiendo su ganancia de peso semanal mediante un balanza mecánica con una precisión de 10 gramos.

Los datos obtenidos se graficaron en una curva de crecimiento del peso en gramos en función del tiempo en semanas. Una vez finalizado el estudio los animales fueron incorporados junto al resto de la Colonia.

Para obtener las curvas de crecimiento se utilizó el paquete Microcal Origin 6.0 (Microcal Software Inc., USA, 1999). Se ajustaron los datos a una curva sigmoidea.

## **Resultados**

Los datos obtenidos por camada y sexo (**Tabla 7. II**) fueron graficados (**Fig. 7. 2.**) estableciendo una curva de crecimiento del peso en gramos en función del tiempo en semanas que resulta orientativa para futuras investigaciones ampliatorias.

Los trazados de la **Fig. 7. 2.** muestran que hasta la semana 12 a 13 de vida no existe dimorfismo sexual en la ganancia de peso, pero a partir de dicha semanas comienza a notarse una diferencia marcada en el incremento de peso entre machos y hembras. El promedio de ganancia final a las 38 semanas fue un 25 % mayor en el peso de los machos en comparación con las hembras.

Los datos de la **Tabla 7.II.** se ajustaron a una curva de crecimiento del peso promedio para machos (n= 3, **Fig. 7. 3.**) y para hembras (n= 2, **Fig. 7. 4.**)

*Armadillos y Zarigüeyas como Modelos Experimentales en la Investigación Biomédica:  
Contribuciones a la Generalización de su Uso*

**Tabla 7. II.**

Evolución de la ganancia de peso en función de las semanas comparando por sexo las tres camadas de *C. villosus* nacidas en el bioterio

Chaetophractus villosus									
Gr. Sem	Comparación intercamadas.								
	Ma. A	Ma. B	Ma. C	$\bar{x}$	$\delta$	Hem A	Hem B	$\bar{x}$	$\delta$
Nac.	90	100	110	100	10	90	100	95	7.07
1.	210	250	230	230	20	220	250	235	21.21
2.	320	300	340	320	20	300	350	325	35.36
3.	450	520	480	483	35.12	460	530	495	49.5
4.	730	830	770	777	50.33	730	850	790	84.85
5.	950	1010	1010	990	34.64	940	1120	1030	127.28
6.	1160	1260	1230	1217	51.32	1170	1350	1260	127.28
7.	1370	1450	1410	1410	40	1400	1630	1515	162.63
8.	1510	1580	1570	1553	37.86	1490	1710	1600	155.56
9.	1750	1920	1890	1853	90.74	1750	2010	1880	183.85
10.	1920	2050	2080	2017	85.05	1910	2250	2080	240.42
11.	2280	2420	2390	2363	73.71	2190	2350	2270	113.14
12.	2400	2530	2550	2493	81.45	2340	2720	2530	268.7
13.	2640	2850	2790	2760	108.17	2560	2850	2705	205.06
14.	2920	3280	3120	3107	180.38	2860	2850	2855	7.07
15.	3270	3690	3460	3473	210.32	3170	3160	3165	7.07
16.	3430	3780	3590	3600	175.21	3240	3170	3205	49.5
17.	3550	3760	3680	3663	105.99	3260	3150	3205	77.78
18.	3580	3750	3710	3680	88.88	3280	3250	3265	21.21
19.	3620	3750	3800	3723	92.92	3290	3350	3320	42.43
20.	3910	4120	4100	4043	115.9	3520	3280	3400	169.71
21.	4080	4350	4380	4270	165.23	3530	3250	3390	197.99
22.	4050	4450	4610	4370	288.44	3500	3250	3375	176.78
23.	4020	4660	4520	4400	336.45	3640	3420	3530	155.56
24.	4100	4680	4610	4463	316.6	3660	3530	3595	91.92
25.	4250	4770	4780	4600	303.15	3720	3710	3715	7.07
26.	4250	4860	4760	4623	327.16	3710	3560	3635	106.06
27.	4480	5130	5040	4883	352.18	3820	3650	3735	120.21
28.	4590	5020	5210	4940	317.65	3880	3840	3860	28.28
29.	4580	5050	5200	4943	323.47	3890	3870	3880	14.14
30.	4650	5020	4930	4867	192.96	3880	3880	3880	0
31.	4760	4830	4950	4847	96.09	3880	3850	3865	21.21
32.	4270	5030	4880	4727	402.53	4010	4030	4020	14.14
33.	4210	4930	4920	4687	412.84	3890	3870	3880	14.14
34.	4250	5000	4950	4733	419.32	3880	3850	3865	21.21
35.	4260	4900	4970	4710	391.28	3870	3850	3860	14.14
36.	4160	4910	4980	4683	454.57	3880	3850	3865	21.21
37.	4270	4950	4990	4737	404.64	3890	3870	3880	14.14
38.	4260	4860	4990	4703	389.4	3890	3870	3880	14.14

Gr.: gramos

Sem.: Semanas

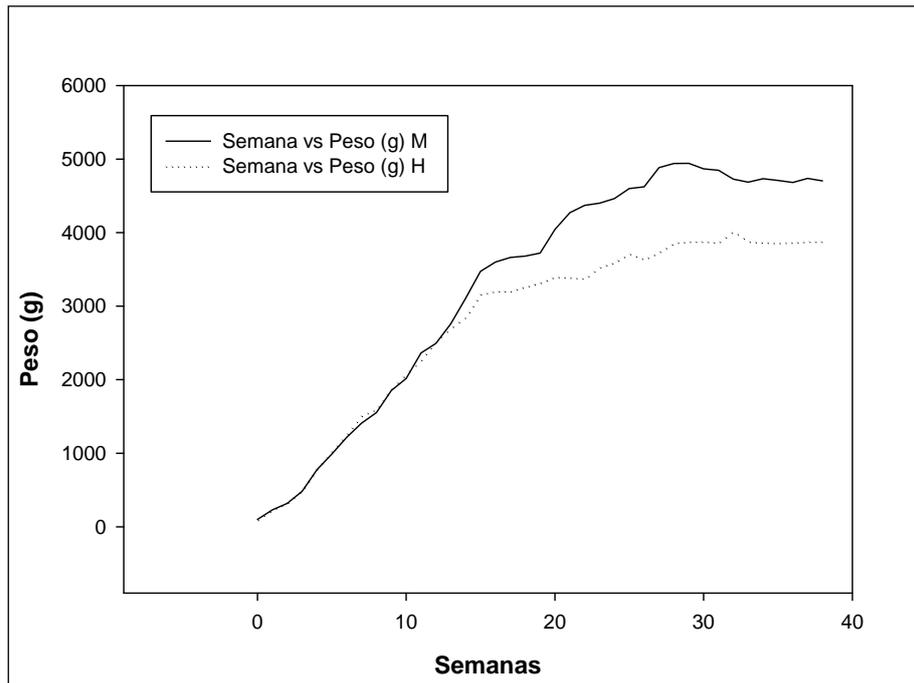
Nac.: peso al nacimiento

$\bar{x}$ : Promedio

$\delta$ : Desvío Standard

Ma.: Macho

Hem.: Hembra

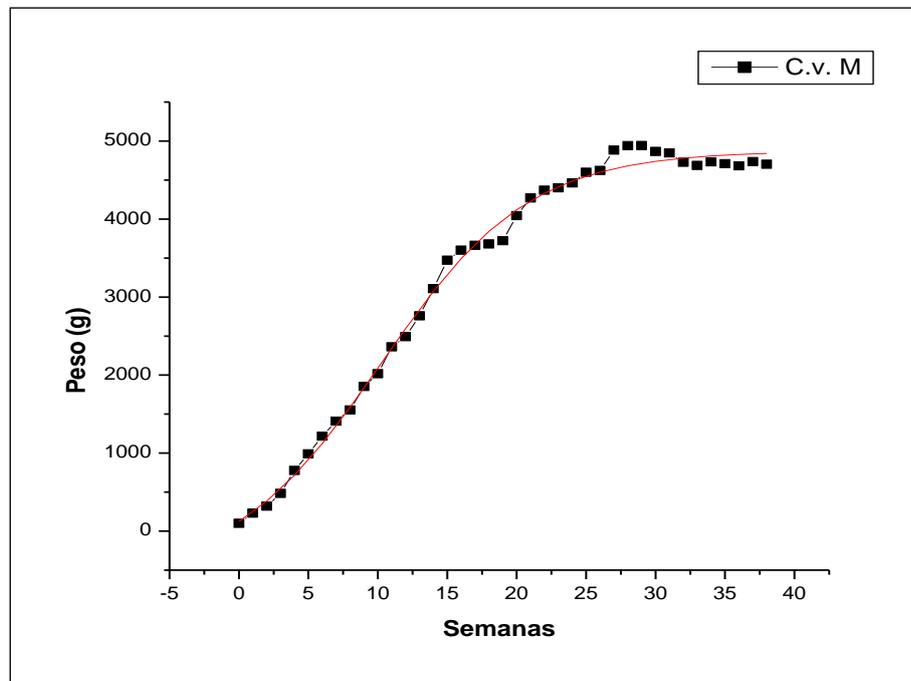


**Figura 7. 2.**

Grafico que muestra el crecimiento en peso (en gramos) de hembras (n= 2) y machos (n= 3) de *C. villosus* a lo largo de 38 semanas. Se grafica el promedio de individuos de tres camadas nacidas en el bioterio.

**M:** machos.

**H:** hembras.

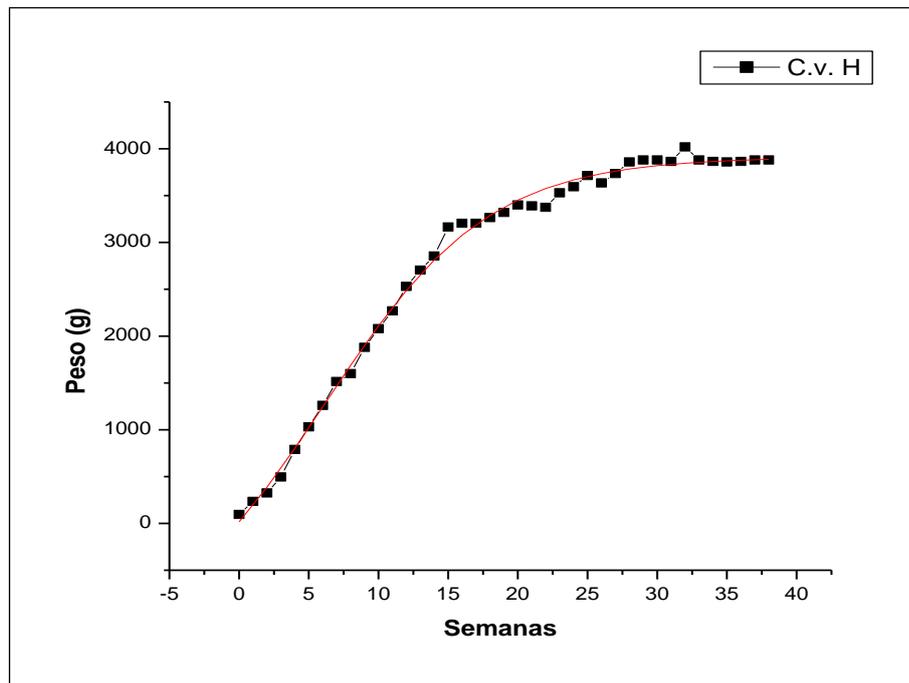


**Figura 7. 3.**

Curva de crecimiento del peso promedio para los machos (n= 3) de *C. villosus* de las camadas nacidas en el bioterio, a lo largo de 38 semanas. El coeficiente de correlación R fue de 0,9897 (P<0.0001).

M: machos.

C.v.: *C. villosus*.



**Figura 7. 4.**

Curva de crecimiento del peso promedio para las hembras (n= 2) *C. villosus* de las camadas nacidas en el bioterio, a lo largo de 38 semanas. El coeficiente de correlación R fue de 0,9897 (P<0.0001).

H: hembras.

C.v.: *C. villosus*.

### **7. 2. 2. Consideraciones finales de esta sección.**

La manipulación de las crías de *C. villosus* se realizó desde el primer día, adoptando un procedimiento operativo tendiente a evitar un rechazo del recién nacido por parte de la madre si descubriese olores del operador en sus crías. Estos procedimientos insumían un tiempo prolongado pero necesario, debió realizarse esta manipulación, no solo para los controles sanitarios de las crías sino para el procedimiento del pesaje.

El procedimiento de manipulación de las crías, aunque laborioso e incómodo, se juzgó exitoso ya que no se observaron signos de rechazo.

Se juzga que la cantidad de animales utilizados resulta aún insuficiente para inferir conclusiones generalizadoras. El acopio de nuevos datos resulta imprescindible para elaborar un modelo aceptablemente predictivo.

Los datos obtenidos son considerados válidos para las condiciones de bioterio planteadas por el autor, debiendo corroborarse si hay o no diferencias con las mediciones realizadas en condiciones de campo.

El criterio utilizado para efectuar el destete ya fue explicado en el **Capítulo 6: Aspectos reproductivos.**

En base a los datos de la **Tabla 7. II** y el trazado de la curva de la **Fig. 7. 2.** se sugiere que luego del destete y consecuente cambio de alimentación, la pendiente de la curva no se observa modificada. Esto hace pensar que la alimentación administrada no provoca alteraciones en el ritmo de crecimiento de los animales.

En el mismo trazado de la curva se observa también que hasta la semana 12 a 13 de vida no existe dimorfismo sexual en la ganancia de peso, a partir de dicha fecha comienza a notarse una diferencia marcada en el incremento de peso entre machos y hembras.

Este evento podría atribuirse a características intrínsecas del animal relacionadas con los valores hormonales diferenciales, característicos de cada sexo. En especies uníparas se reportan pesos diferentes al nacimiento entre machos y hembras, aunque las pendientes se mantienen similares luego de nacidos durante la lactancia y las diferencias de peso se agrandan luego del destete (Álvarez Zapata y Benezra S., 2004). (Bavera y col. 2005) Sin embargo no hemos encontrado reportes tan específicos en este aspecto en especies multíparas donde convivan intrauterinamente los dos sexos.

En nuestro caso no hemos observado diferencia significativa de pesos entre sexos al nacimiento, es por esto que suponemos que la diferenciación sexual de los pesos producida luego del destete puede deberse exclusivamente a la influencia hormonal. Como ya ha sido comentado, los andrógenos tienen mayores efectos sobre el crecimiento de huesos y músculos que los estrógenos. También se destaca la coincidencia que esta diferenciación de ganancia de peso según el sexo se produce a poco de iniciar la alimentación con nutrientes balanceados. Sería adecuado corroborar si esta diferencia y sus respectivas pendientes se producen también en estado silvestre, con comida natural adquirida por los propios animales. Esto podría dilucidar si es más fuerte el ascendiente intrínseco hormonal o el extrínseco nutricional, o se establece una influencia combinada. Debemos, en este punto, recordar la observación que las crías compartían la comida de la madre en el período predestete, lo que iría en detrimento de una primacía nutricional en este punto en discusión.

Las curvas obtenidas en la **Figuras 7. 3.** y **7. 4.** para la ganancia de peso de hembras y machos respectivamente, muestran un muy buen ajuste a la curva sigmoidea esperada para este tipo de estudios, acorde a las consideraciones hechas en la **Introducción** del presente **Capítulo.**

Se pueden distinguir en la curva dos partes diferentes:

- a. Una fase de autoaceleración al principio de la vida, en la cual el potencial de crecimiento del animal es muy elevado y se realiza con ganancias importantes de peso en valor absoluto por unidad de tiempo.
- b. La segunda parte de la curva determina la fase de autoinhibición. A partir de cierta edad que generalmente corresponde con la pubertad, el potencial de crecimiento disminuye. Las ganancias de peso realizadas por unidad de tiempo son cada vez más pequeñas, hasta que finalmente el animal alcanza la madurez. En esta etapa la curva es de inclinación decreciente. El punto en que cesa la aceleración del crecimiento para iniciar la desaceleración del mismo, se conoce como punto de inflexión, que en los animales superiores coincide con la pubertad (Bavera y col. 2005). Dado que para algunos autores, el punto de inflexión de la curva representa la pubertad de los ejemplares en estudio, se podría proponer una nueva hipótesis de trabajo que consiste en medir y comparar, en forma simultánea, la ganancia de peso a través del tiempo y la evolución temporal de la concentración sérica de las hormonas sexuales.

Adoptando esta hipótesis de coincidencia entre el punto de inflexión y la pubertad, siendo esta una época de profundos cambios hormonales y transformaciones fisiológicas definidas, serían importantes los datos obtenidos para establecer la equivalencia de edades entre especies y entre razas de una misma especie que tuvieran ritmos de crecimiento diferente, lo que permitiría hacer comparaciones de crecimiento entre ellas.

Se considera que este estudio resulta útil y orientativo para futuras investigaciones ampliatorias sabiendo que las condiciones de mantenimiento en bioterio fueron apropiadas y la ganancia de peso resultó adecuada para los animales en cautiverio. Sería deseable que se pudieran realizar muestreos similares en animales en estado silvestre para tener mejores perfiles de comparación.

La incorporación a la Colonia de los animales estudiados se realizó sin demostrar diferencias con el resto de sus congéneres.

### **7. 3. ZARIGÜEYAS**

---

Los estudios acerca de una especie de la que poco se sabe deben incluir aspectos fundamentales de su biología. Entre ellos, el crecimiento individual de los animales merece especial atención para conseguir una evaluación correcta de la colonia.

La curva de crecimiento para los mamíferos suele tener un patrón general, incluyendo una forma sigmoidea que alcance valores asintóticos a una cierta edad de la especie.

En esta parte del trabajo de **Tesis** se propone estudiar la evolución del crecimiento y aumento de peso de individuos de *L. crassicaudata* nacidos en cautividad y bajo apareamientos programados.

#### **7. 3. 1. Crecimiento de *Lutreolina crassicaudata* en condiciones de bioterio.<sup>11</sup>**

##### **Materiales y método.**

Los animales utilizados pertenecían a la Colonia de Marsupiales y Armadillos del Instituto de Neurociencia (Ineuci–Conicet), ubicada en el Bioterio central de la Facultad de Ciencia Exactas y Naturales (UBA). La especie utilizada fue *L. crassicaudata* (zarigüeya colorada o coligrueso).

Se trabajo sobre 3 camadas nacidas en el laboratorio, de hembras apareadas en forma programada. Estas hembras eran animales adultos adaptados y mantenidos en cautividad por más de 6 meses.

Se realizaron muestreos de citología vaginal exfoliativa con posterior coloración según la técnica de Papanicolaou modificadas por el autor de esta Tesis. Ya fueron explicados los cambios metodológicos sugeridos tanto para la toma de muestras como para su posterior coloración (**Capítulo 6: Aspectos reproductivos. A. Establecimiento de una técnica confiable para el estudio del ciclo reproductivo de las especies de interés en esta Tesis**).

Se identificó la etapa de estro mediante el uso de los índices antes mencionados (**Capítulo 6: Aspectos reproductivos. B. Caracterización de los diferentes períodos del ciclo estral de las especies en estudio.**) y se las apareo con machos preasignados durante

---

<sup>11</sup> Parte de los datos consignados a continuación fueron reportados en: "Reproduction and growth of *Lutreolina crassicaudata* in laboratory conditions". Iodice y col., 1986 a. Regional / International Meeting on Laboratory Animals. ICLAS-CEMIB-FESBE., Aguas de Lindoia, Brasil. Comunicación: P-2.23.

un lapso no mayor de 3 o 4 días (ver: **Capítulo 6: Aspectos reproductivos. C. Apareamiento programado de las especies en estudio**). Esta elección previa de machos tuvo por objeto el establecimiento de líneas abiertas de reproducción para evitar la consanguinidad en la Colonia.

Se tomaron para la experiencia tres camadas nacidas en los meses de octubre, noviembre y diciembre. A partir del décimo día después de cada primer apareamiento se revisó diariamente el marsupio de las hembras hasta observar la aparición de crías en la bolsa marsupial. Este lapso fue de entre 13 y 15 días.

Desde el momento del parto se controló el estado de los recién nacidos dentro del marsupio cada 4 o 5 días.

A partir de la 13er. semana de vida las crías fueron destetados y alojados en forma individual. Los ejemplares en estudio fueron alojados en jaulas de alambre de 44, 32 y 25 cm de largo, ancho y altura respectivamente, tal como fue detallado en el **Capítulo 5 de Condiciones de Alojamiento (Figura 5. 11.)**.

Se les administró alimento balanceado para caninos ya detallado en las **Tablas. 5. I y 5. II** en forma *ad-libitum* y las condiciones de temperatura, humedad y luz se resumen en la **Tabla 7. III**, pero no difieren de las ya descritas en el **Capítulo 5 de Condiciones de alojamiento**.

Los pesos de la crías fueron tomados semanalmente a partir de la primera semana del destete y durante 80 semanas, con una balanza mecánica con una precisión de 5 gramos.

**Tabla 7. III.**

Resumen de la condiciones de luz, temperatura y humedad a las que se mantuvieron las crías de *L. crassicaudata* en estudio.

<b>Iluminación</b>	• Natural o L : O = 12 : 12
<b>Temperatura</b>	• No menor a 20 ° C
<b>Humedad</b>	Natural, sin regulación.

Durante esta experiencia, los ejemplares de la **Camada I** pasaron a formar parte de un ensayo de condicionamiento operativo para un estudio de comportamiento durante las semanas 50 y 60 de vida. Para tal fin se le disminuyó la alimentación a un 80 % de su ración habitual. Pasado el lapso de 10 semanas salieron del estudio comportamental y se les normalizó la alimentación.

Para obtener las curvas de crecimiento se utilizó el paquete Microcal Origin 6.0 (Microcal Software Inc., USA, 1999). Se ajustaron los datos a una curva sigmoidea.

### **Resultados.**

Los datos recolectados durante las 80 semanas son presentados en gráficos por sexo y camadas. Se muestra a continuación la distribución de los pesos (**g**) versus las distintas edades (**semanas**) discriminando machos, hembra y camadas en gráficos independientes.

Las **Tablas 7. IV.** y **7. V.** representan la evolución de los pesos de hembras y machos de la **Camada II** nacida en el mes de noviembre, mientras que las **Tablas 7. VI.** y **7. VII.** pertenecen a la **Camada III** que nacieron en el mes de diciembre.

Los promedios de hembras y machos de las Camadas II y III consignados en las **Tablas 7. IV., 7. V., 7. VI** y **7. VII** respectivamente son graficados en la **Fig. 7. 5.**

Los datos de la **Tabla 7. IV.** y **7. VI.** se ajustaron a una curva de crecimiento del peso promedio para hembras (n= 7, **Fig. 7. 6.**) y los datos de las **Tablas 7. V.** y **7. VII.** se ajustaron a una curva de crecimiento para machos (n= 5, **Fig. 7. 7.**)

*Armadillos y Zarigüeyas como Modelos Experimentales en la Investigación Biomédica:  
Contribuciones a la Generalización de su Uso*

**Tabla 7. IV.**

Pesos de las hembras (n=3) de *L. crassicaudata* de la Camada II nacidas en noviembre, a través de 80 semanas.

Camada II					
Gramos Semanas	Hembras				
	A	B	C	x	δ
13	103	85	100	96,66	10.4
14	130	100	105	111,66	16.07
15	145	120	125	130	13.22
16	175	135	165	158,33	20.82
17	200	155	190	181,66	23.63
18	230	175	205	203,33	27.54
19	260	195	220	225	32.79
20	280	170	225	225	55
21	290	185	225	233,33	52.99
22	315	190	240	248,33	62.92
23	325	195	255	258,33	65.06
24	340	215	270	275	62.65
25	350	240	280	290	55.68
26	355	240	280	291,66	58.38
27	360	260	300	306,66	50.33
28	365	270	300	311,66	48.56
29	370	275	295	313,33	50.08
30	380	275	300	318,33	54.85
31	380	280	300	320	52.92
32	370	275	305	316,66	48.56
33	375	280	305	320	49.24
34	380	275	310	321,66	53.46
35	375	280	315	323,33	48.05
36	385	270	300	318,33	59.65
37	390	285	320	331,66	53.46
38	390	290	315	331,66	52.04
39	395	300	335	343,33	48.05
40	400	315	345	353,33	43.11
41	410	300	365	358,33	55.30
42	410	315	365	363,33	47.32
43	415	340	360	371,66	38.84
44	440	340	375	385	50.74
45	440	335	380	385	52.68
46	455	330	385	390	62.65
47	440	330	380	383,33	55.08
48	445	345	365	385	52.92
49	430	335	365	376,66	48.56
50	435	335	380	383,33	50.08
51	440	330	395	383,33	55.3
52	430	375	380	395	30.42

Camada II					
Gramos Semanas	Hembras				
	A	B	C	x	δ
53	420	350	380	383,33	35.12
54	440	380	390	403,33	32.15
55	440	400	380	406,66	30.55
56	440	410	390	413,33	25.17
57	450	410	390	416,66	30.55
58	465	450	395	436,66	36.86
59	490	465	400	451,66	46.46
60	515	470	410	465	52.68
61	515	470	410	465	52.68
62	540	470	425	478,33	57.95
63	540	450	425	471,66	60.48
64	575	445	420	480	83.22
65	590	450	415	485	92.6
66	600	470	445	505	83.22
67	605	465	430	500	92.6
68	605	470	425	500	93.67
69	595	465	425	495	88.81
70	565	465	420	483,33	74.22
71	560	470	410	480	75.5
72	555	475	390	473,33	82.51
73	505	490	405	466,66	53.93
74	550	510	420	493,33	66.58
75	520	485	420	475	50.74
76	520	490	420	476,66	51.32
77	525	485	405	471,66	61.1
78	490	495	420	468,33	41.93
79	495	485	425	468,33	37.86
80	485	480	410	458,33	41.93
81	505	470	385	453,33	61.71
82	550	455	365	456,66	92.51
83	555	430	370	451,66	94.38
84	550	455	365	456,66	92.51
85	560	460	370	463,33	95.04
86	565	465	380	470	92.6
87	550	470	380	466,66	85.05
88	545	480	395	473,33	75.22
89	550	490	395	478,33	78.16
90	545	500	400	481,66	74.22
91	545	500	400	481,66	74.22
92	540	500	410	483,33	66.58

A, B, C: *L. crassicaudata* hembras (n=3)

X: Promedio

δ: Desvío Standard

*Armadillos y Zarigüeyas como Modelos Experimentales en la Investigación Biomédica:  
Contribuciones a la Generalización de su Uso*

**Tabla 7. V.**

Pesos de los machos (n=3) de *L. crassicaudata* de la Camada II nacidos en noviembre, a través de 80 semanas.

Camada II					
Gramos Semanas	Machos				
	A	B	C	x	δ
13.	95	95	95	95	00000
14.	130	135	120	128,33	7,64
15.	145	120	130	131,66	12,58
16.	180	155	160	165	13,23
17.	205	150	180	178,33	25,54
18.	235	200	220	218,33	17,56
19.	270	245	240	251,66	16
20.	290	275	250	271,66	20,2
21.	325	285	250	286,66	37,53
22.	335	340	280	318,33	33,29
23.	375	370	290	345	47,7
24.	390	395	335	373,33	33,29
25.	400	440	355	398,33	42,52
26.	415	445	365	408,33	40,41
27.	445	490	420	451,66	35,47
28.	460	475	450	461,66	12,58
29.	495	510	445	483,33	30,03
30.	510	510	475	498,33	20,2
31.	550	505	485	513,33	33,29
32.	575	525	485	528,33	45,09
33.	605	540	505	550	50,74
34.	615	545	510	556,66	53,46
35.	635	565	535	578,33	51,32
36.	680	560	555	598,33	70,77
37.	725	595	600	640	73,63
38.	745	610	635	670	68,74
39.	730	610	665	668,33	60,07
40.	815	625	655	698,33	102,14
41.	825	605	630	686,66	120,45
42.	865	650	705	740	111,69
43.	890	640	685	738,33	133,26
44.	910	645	705	753,33	138,95
45.	920	655	730	768,33	136,6
46.	855	670	655	726,66	111,39
47.	930	655	740	775	140,8
48.	945	680	735	786,66	139,85
49.	955	705	745	801,66	134,29
50.	925	730	720	791,66	115,58
51.	900	755	685	780	109,66
52.	1000	765	745	836,66	141,8

Camada II					
Gramos Semanas	Machos				
	A	B	C	x	δ
53.	840	720	605	721,66	117,51
54.	905	780	750	811,66	82,21
55.	930	760	655	781,66	138,77
56.	960	790	685	811,66	138,77
57.	890	835	680	801,66	108,9
58.	1060	860	570	830	246,37
59.	1080	875	655	870	212,54
60.	1075	870	700	881,66	187,77
61.	1075	870	700	881,66	187,77
62.	910	870	750	843,33	83,27
63.	1045	815	700	853,33	175,67
64.	1020	870	810	900	108,17
65.	1015	840	780	878,33	122,1
66.	1055	845	765	888,33	148,78
67.	940	890	805	878,33	68,25
68.	1040	880	755	891,66	142,86
69.	1060	855	805	906,66	135,12
70.	1070	860	750	893,33	135,58
71.	1065	855	750	890	160,39
72.	1020	755	750	841,66	154,46
73.	1090	865	745	900	175,14
74.	1015	880	765	886,66	125,13
75.	1030	880	785	898,66	123,52
76.	1060	860	790	903,33	140,12
77.	960	845	795	866,66	84,61
78.	945	880	795	873,33	75,22
79.	950	885	790	875	80,47
80.	960	900	800	886,66	80,83
81.	985	940	895	940	45
82.	1005	985	945	978,33	30,55
83.	1055	1005	995	1018,33	32,15
84.	1095	1065	1045	1068,33	25,17
85.	1110	1090	1080	1093,33	15,28
86.	1045	1045	1055	1048,33	5,77
87.	1090	1035	1030	1051,66	33,29
88.	1120	1095	1055	1090	32,78
89.	1145	1125	1080	1166,66	33,29
90.	1145	1125	1080	1166,66	33,29
91.	1255	1200	1115	1190	70,53
92.	1250	1210	1120	1193,33	66,58

A, B, C: *L. crassicaudata* machos (n=3)

X: Promedio

δ: Desvío Standard

*Armadillos y Zarigüeyas como Modelos Experimentales en la Investigación Biomédica:  
Contribuciones a la Generalización de su Uso*

**Tabla 7. VI.**

Pesos de las hembras (n=4) de *L. crassicaudata* de la Camada III nacidas en diciembre, a través de 80 semanas.

Camada III						
Gramos Semanas	Hembras					
	A	B	C	D	x	δ
13.	85	100	115	100	100	12.25
14.	95	110	105	105	103,75	8.29
15.	120	120	105	110	113,75	7.5
16.	130	120	130	115	123,75	7.5
17.	130	150	145	120	136,25	13.77
18.	130	175	160	125	147,5	23.99
19.	145	190	175	140	162,5	13.99
20.	160	190	190	150	172,5	20.62
21.	160	205	190	160	178,75	22.5
22.	175	235	195	170	193,75	29.55
23.	190	235	205	165	198,75	29.26
24.	195	255	220	170	210	36.29
25.	200	265	220	165	212,5	41.73
26.	195	270	220	190	218,75	36.6
27.	215	265	225	160	216,25	43.28
28.	220	280	240	165	226,25	47.85
29.	240	285	250	200	243,75	34.97
30.	250	300	250	205	251,25	38.81
31.	255	310	240	205	252,5	43.68
32.	255	335	270	205	266,25	53.6
33.	255	360	270	210	273,75	62.9
34.	280	345	285	225	283,75	49.05
35.	275	365	295	230	291,25	56.18
36.	300	370	290	240	300	53.54
37.	285	400	310	250	311,25	64.08
38.	320	390	315	265	322,5	51.4
39.	325	390	320	270	326,25	49.22
40.	300	390	330	220	310	70.71
41.	285	375	315	255	307,5	51.23
42.	310	390	340	255	323,75	56.48
43.	280	375	350	265	317,5	53.3
44.	275	365	320	265	306,25	45.89
45.	285	380	325	270	315	49.16
46.	290	390	325	275	320	51.15
47.	285	375	315	270	311,25	46.44
48.	255	385	330	275	311,25	58.5
49.	320	405	340	300	341,25	45.53
50.	310	415	370	295	347,5	55.45
51.	310	415	345	300	342,5	52.04
52.	290	410	340	285	331,25	58.08

Camada III						
Gramos Semanas	Hembras					
	A	B	C	D	x	δ
53.	305	405	345	295	337,5	49.92
54.	310	415	355	315	348,75	48.54
55.	315	430	375	310	357,5	56.64
56.	325	430	375	310	360	54.31
57.	325	445	400	300	367,5	66.9
58.	330	435	380	300	361,25	59.21
59.	335	450	375	310	367,5	61.17
60.	345	445	380	305	368,75	59.35
61.	345	465	390	300	375	70.36
62.	355	475	385	310	381,25	69.69
63.	345	495	315	315	367,5	86.17
64.	340	490	340	300	367,5	83.82
65.	345	490	345	295	368,75	84.2
66.	345	495	340	300	370	85.73
67.	355	480	350	270	363,75	86.73
68.	375	465	320	300	365	73.82
69.	360	475	345	280	365	81.14
70.	355	465	355	285	365	74.39
71.	370	465	355	295	371,25	70.4
72.	365	460	355	300	370	66.46
73.	355	465	340	310	367,5	67.64
74.	375	475	335	310	373,75	72.61
75.	370	465	340	300	368,75	70.28
76.	370	450	320	295	358,75	68.36
77.	370	465	315	295	361,25	76.09
78.	370	470	325	310	368,75	72.15
79.	385	460	340	310	373,75	62.24
80.	390	465	345	315	378,75	65.24
81.	385	470	350	315	380	66.46
82.	390	465	345	310	377,5	66.9
83.	380	450	340	315	371,25	58.93
84.	385	450	345	310	372,5	60.07
85.	390	455	355	300	375	64.94
86.	395	465	345	310	378,75	67.25
87.	390	460	340	300	372,5	68.98
88.	395	465	345	315	380	65.57
89.	395	460	340	310	376,25	66
90.	400	465	350	310	381,25	66.88
91.	400	465	350	310	381,25	66.88
92.	400	460	355	315	382,5	62.25

A, B, C, D: *L. crassicaudata* hembras (n=4)  
X: Promedio  
δ: Desvío Standard

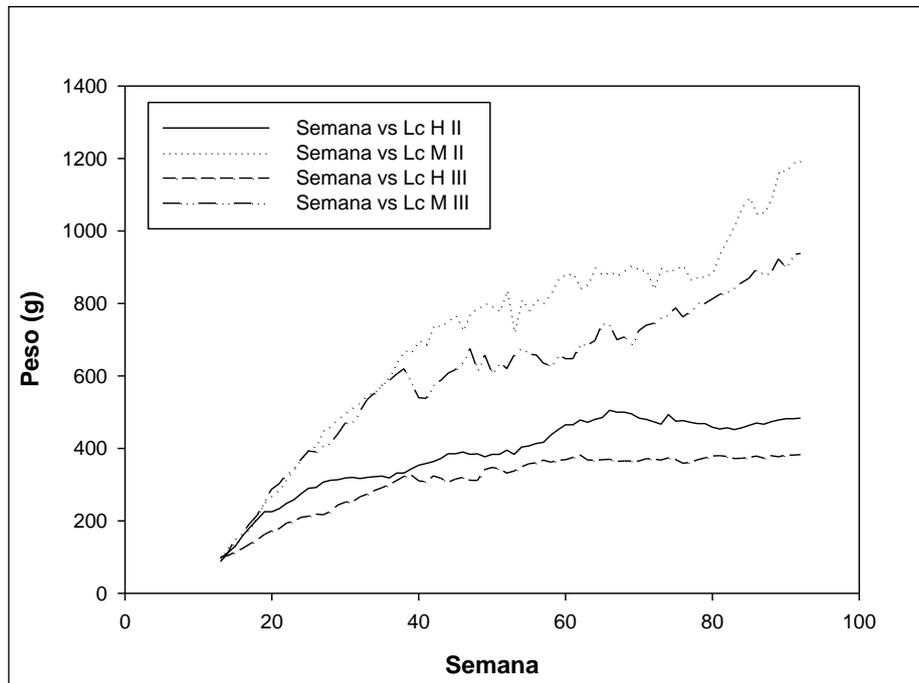
*Armadillos y Zarigüeyas como Modelos Experimentales en la Investigación Biomédica:  
Contribuciones a la Generalización de su Uso*

**Tabla 7. VII.**

Pesos de los machos (n=2) de *L. crassicaudata* de la Camada III nacidas en diciembre, a través de 80 semanas.

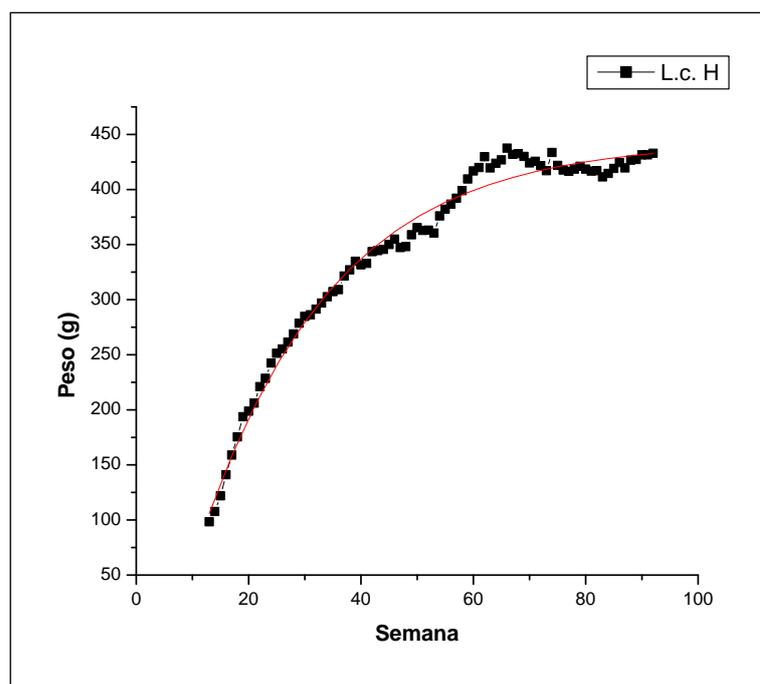
Camada III					Camada III				
Gramos Semanas	Machos				Gramos Semanas	Machos			
	A	B	x	δ		A	B	x	δ
13	90	85	87,5	3.54	53	660	655	657,5	3.54
14	115	105	110	7.07	54	685	675	680	7.07
15	155	150	152,5	3.54	55	645	675	660	21.21
16	185	130	167,5	24.75	56	645	670	657,5	17.68
17	225	160	192,5	45.96	57	600	670	635	49.5
18	250	180	215	49.5	58	585	670	627,5	60.11
19	300	215	257,5	60.1	59	675	640	657,5	24.75
20	320	255	287,5	45.96	60	650	645	647,5	3.54
21	340	265	302,5	53.03	61	690	605	647,5	60.1
22	250	310	330	28.28	62	745	640	690	77.81
23	370	325	347,5	31.82	63	735	635	685	70.71
24	385	355	370	21.21	64	765	630	697,5	95.46
25	425	360	392,5	45.96	65	790	700	745	63.64
26	420	360	390	42.43	66	780	700	740	56.57
27	420	400	410	14.14	67	730	670	700	42.43
28	410	420	415	7.07	68	735	680	707,5	38.89
29	440	440	440	0	69	730	645	687,5	60.1
30	470	470	470	0	70	750	700	725	35.36
31	480	470	475	7.07	71	755	725	740	21.21
32	515	490	502,5	17.68	72	745	745	745	0
33	560	510	535	35.36	73	750	775	762,5	17.68
34	570	535	552,5	24.75	74	740	800	770	42.43
35	595	565	580	21.23	75	730	845	787,5	81.32
36	600	575	587,5	17.68	76	725	800	762,5	53.03
37	615	595	605	14.14	77	720	835	777,5	81.32
38	630	610	620	11.14	78	740	865	802,5	88.39
39	545	515	580	49.5	79	750	850	800	70.71
40	480	600	540	84.85	80	775	850	812,5	53.03
41	525	550	537,5	17.68	81	790	860	825	49.5
42	550	505	577,5	38.89	82	790	875	832,5	60.1
43	550	625	587,5	53.03	83	835	855	845	14.14
44	595	620	607,5	17.68	84	845	870	857,5	17.68
45	620	615	617,5	3.54	85	875	865	870	7.07
46	650	630	640	14.14	86	895	875	895	14.14
47	660	690	675	21.21	87	885	875	880	7.07
48	590	610	617,5	38.89	88	905	865	885	28.28
49	670	645	657,5	17.68	89	950	895	922,5	38.89
50	635	580	607,5	38.89	90	920	880	900	28.28
51	630	645	637,5	10.6	91	950	920	935	21.21
52	625	615	620	7.07	92	950	925	937,5	17.68

A, B: *L. crassicaudata* machos (n=2)  
X: Promedio  
δ: Desvío Standard



**Fig. 7. 5.** Grafico que muestra el crecimiento en peso (gramos) de hembras y machos de *L. crassicaudata* de las camadas II (hembras, n= 3 y machos, n= 3) y III (hembras, n= 4 y machos, n= 2) nacidas en el bioterio, a través de 80 semanas.

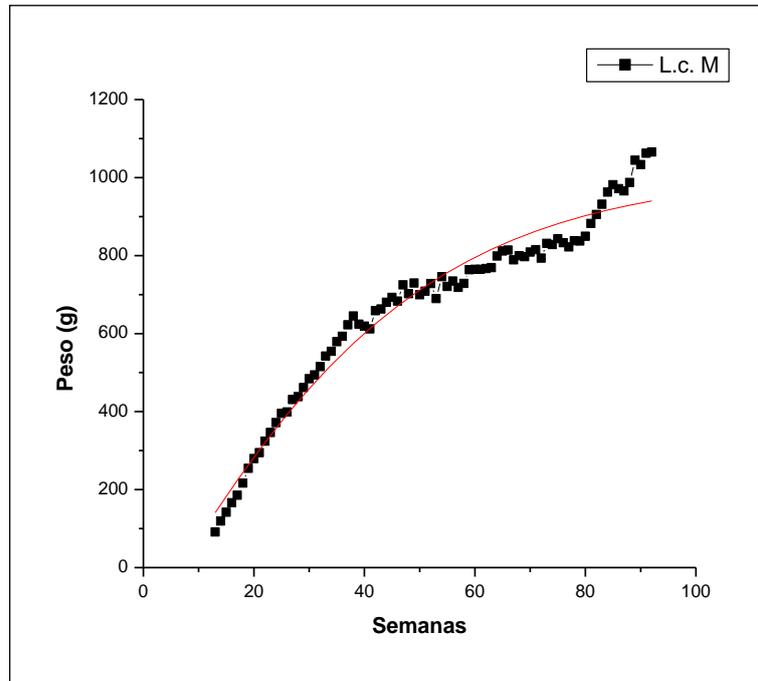
L.c.: *L. crassicaudata*. H: hembra. M: macho



**Figura 7. 6.**

Curva de crecimiento del peso promedio para las hembras (n= 7) de *L. crassicaudata* de las camadas II y III nacidas en el bioterio, a lo largo de 80 semanas. El coeficiente de correlación R fue de **0,98029** (P<0.0001).

**L.c.:** *L. crassicaudata*.      **H:** hembra.



**Figura 7. 7.** Curva de crecimiento del peso promedio para los machos (n= 5) de *L. crassicaudata* de las camadas II y III nacidas en el bioterio, a lo largo de 80 semanas. El coeficiente de correlación R fue de **0,9556** (P<0.0001).

**L.c.:** *L. crassicaudata*.      **M:** macho.

Las **Tablas 7. VIII.** y **7. IX.** representan la evolución de los pesos de hembras y machos de la **Camada I** nacida en el mes de octubre, a la cual se le efectuó una privación parcial de alimento balanceado durante 10 semanas.

Los promedios sumados de hembras y machos de las **Camadas II** y **III** consignados en las **Tablas 7. IV., 7. V., 7. VI** y **7. VII.** versus los promedios de hembras y machos de la **Camada I** registrados en las tablas **Tablas 7. VIII.** y **7. IX.** son graficado en la **Fig. 7. 8.**

*Armadillos y Zarigüeyas como Modelos Experimentales en la Investigación Biomédica:  
Contribuciones a la Generalización de su Uso*

**Tabla 7. VIII.**

Pesos de las hembras (n=3) de *L. crassicaudata* de la Camada I nacidas en octubre, a través de 80 semanas, con privación de alimento entre las semanas 50 y 60.

Camada I					
Gramos Semanas	Hembras				
	A	B	C	x	δ
13.	95	90	100	95	5
14.	95	95	110	100	10.4
15.	105	95	130	110	18
16.	105	100	125	110	13.22
17.	135	130	155	140	24.25
18.	125	115	150	130	18.03
19.	140	130	150	140	10
20.	150	135	165	150	15
21.	225	215	250	230	18.03
22.	160	160	190	170	17.32
23.	210	205	245	220	21.79
24.	235	235	280	250	25.98
25.	240	235	275	250	21.79
26.	260	250	300	270	26.46
27.	240	230	280	250	26.46
28.	240	235	275	250	21.75
29.	260	230	290	260	30
30.	280	255	305	280	25
31.	310	275	345	310	35
32.	335	295	360	330	32.79
33.	360	320	400	360	40
34.	365	330	415	370	42.72
35.	345	330	405	360	39.69
36.	365	340	405	370	32.79
37.	365	345	400	370	27.84
38.	345	330	375	350	22.91
39.	325	315	350	330	18.03
40.	385	385	430	400	25.98
41.	340	330	380	350	26.46
42.	355	350	405	370	30.41
43.	340	330	395	355	35
44.	365	350	395	370	22.91
45.	345	335	385	355	26.46
46.	300	295	335	310	21.79
47.	340	330	365	345	18.03
48.	300	295	335	310	21.79
49.	300	300	345	315	25.98
50.	280	280	310	290	17.32
51.	320	325	360	335	21.79
52.	260	260	290	270	17.32

Camada I					
Gramos Semanas	Hembras				
	A	B	C	x	δ
53.	315	310	350	325	21.79
54.	290	280	330	300	26.46
55.	295	290	330	305	21.79
56.	260	260	290	270	17.32
57.	230	225	250	235	13.23
58.	315	310	335	320	17.32
59.	350	350	365	355	8.66
60.	325	325	370	340	21.79
61.	345	345	375	355	17.32
62.	390	390	435	405	25.98
63.	405	400	455	420	30.41
64.	390	380	445	405	35
65.	385	380	435	400	30.41
66.	365	355	405	375	26.46
67.	355	350	405	370	30.41
68.	375	370	410	385	21.79
69.	355	350	405	370	30.41
70.	315	315	360	330	25.98
71.	375	380	430	395	30.41
72.	405	400	470	425	39.05
73.	390	400	440	410	26.45
74.	415	420	470	435	30.41
75.	420	430	470	440	26.45
76.	450	450	510	470	34.64
77.	465	480	510	485	22.91
78.	470	480	520	490	26.46
79.	520	535	580	545	31.22
80.	510	520	575	535	35
81.	490	500	540	510	26.46
82.	450	450	480	460	17.32
83.	460	460	505	475	25.98
84.	440	445	480	455	21.79
85.	460	470	495	475	18.03
86.	465	465	480	470	8.66
87.	490	495	500	495	5
88.	460	470	480	470	10
89.	490	495	500	495	5
90.	470	480	490	480	10
91.	485	495	505	495	10
92.	490	495	500	495	5

A, B, C: *L. crassicaudata* hembras (n=3)  
X: Promedio  
δ: Desvío Standard

*Armadillos y Zarigüeyas como Modelos Experimentales en la Investigación Biomédica:  
Contribuciones a la Generalización de su Uso*

**Tabla 7. IX.**

Pesos de los machos (n=4) de *L. crassicaudata* de la Camada I nacidos en octubre, a través de 80 semanas, con privación de alimento entre las semanas 50 y 60.

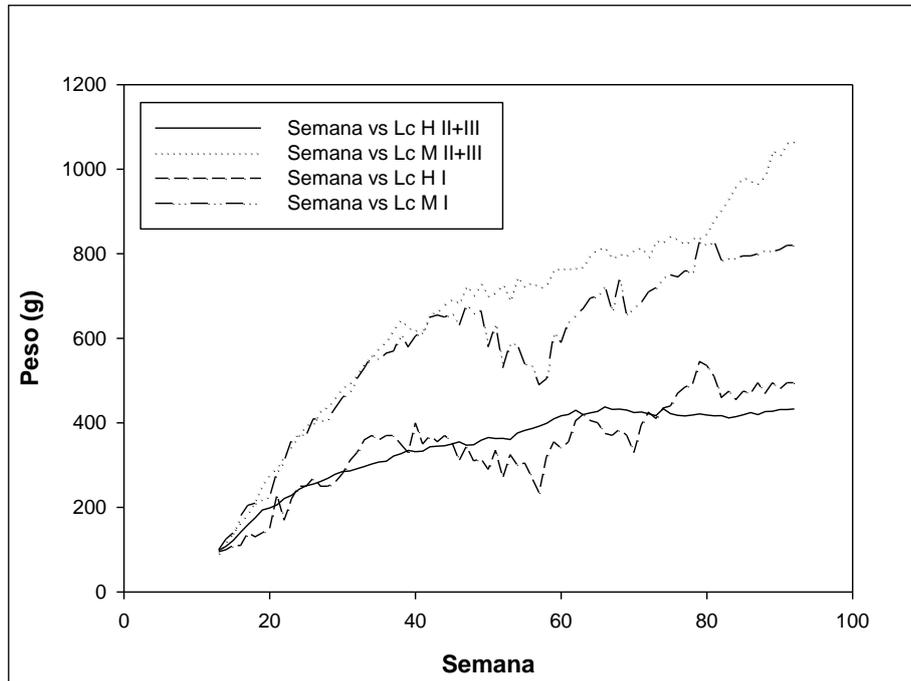
Camada I						
Gramos	Machos				x	δ
Semanas	A	B	C	D		
13.	90	95	105	110	100	9.13
14.	120	115	130	135	125	7.07
15.	130	135	135	160	140	13.54
16.	165	170	190	195	180	14.72
17.	190	190	215	225	205	17.8
18.	190	200	220	225	210	14.71
19.	200	200	230	250	220	24.49
20.	205	210	265	260	225	31.89
21.	260	275	290	315	285	23.45
22.	295.	300	300	345	310	20.41
23.	340	355	360	385	360	18.7
24.	340	365	395	400	375	24.24
25.	350	355	385	390	370	20.41
26.	375	400	430	435	410	27.99
27.	370	395	425	430	405	28.58
28.	380	400	430	430	410	24.5
29.	405	420	460	465	435	26.77
30.	435	435	490	480	460	29.15
31.	455	465	495	485	475	18.26
32.	485	490	525	520	505	20.41
33.	515	520	540	545	530	14.72
34.	540	550	570	580	560	18.26
35.	530	540	560	570	550	19.59
36.	545	560	565	590	565	18.71
37.	555	575	545	605	570	26.46
38.	595	615	585	645	610	23.8
39.	565	585	560	610	580	22.73
40.	590	610	590	630	605	19.15
41.	605	625	605	645	620	15.81
42.	630	655	635	680	650	22.73
43.	625	660	645	690	655	27.39
44.	630	650	640	680	650	21.6
45.	640	660	650	690	660	24.83
46.	615	630	615	660	630	21.21
47.	665	680	665	710	680	17.8
48.	650	660	645	685	660	21.21
49.	655	665	650	690	665	17.8
50.	570	580	570	600	580	14.14
51.	615	635	630	680	635	27.99
52.	515	530	525	550	530	14.72

Camada I						
Gramos	Machos				x	δ
Semanas	A	B	C	D		
53.	575	590	585	610	590	12.25
54.	570	585	580	605	585	14.72
55.	525	540	540	555	540	12.25
56.	520	535	535	550	535	12.9
57.	475	490	495	500	490	10.8
58.	490	505	510	515	505	12.25
59.	600	605	625	630	615	14.72
60.	575	580	600	605	590	15.81
61.	625	630	650	655	640	12.25
62.	640	645	665	670	655	14.72
63.	655	660	680	685	670	20.41
64.	680	685	705	710	695	14.72
65.	690	675	715	720	700	21.21
66.	715	700	740	745	725	23.8
67.	650	655	675	680	665	14.72
68.	710	735	755	760	740	22.73
69.	630	655	665	670	655	17.8
70.	625	675	695	705	675	35.59
71.	635	685	705	715	685	31.89
72.	655	710	730	745	710	39.37
73.	655	725	740	760	720	45.64
74.	680	750	765	785	745	41.83
75.	690	760	770	780	750	40.82
76.	680	750	765	785	745	45.64
77.	690	765	780	805	760	49.5
78.	685	760	775	800	755	45.64
79.	760	830	850	880	830	39.5
80.	750	820	840	870	820	51
81.	760	830	850	880	830	43.2
82.	730	780	800	830	785	38.08
83.	735	785	810	830	790	41.03
84.	740	780	815	825	790	38.51
85.	750	785	820	825	795	34.88
86.	755	780	815	830	795	33.91
87.	760	785	820	835	800	26.22
88.	770	790	830	850	810	36.51
89.	765	785	825	845	805	32.91
90.	775	785	830	850	810	28.06
91.	785	795	840	860	820	32.4
92.	785	800	840	855	820	32.91

A, B, C, D: *L. crassicaudata* machos (n=4)

X: Promedio

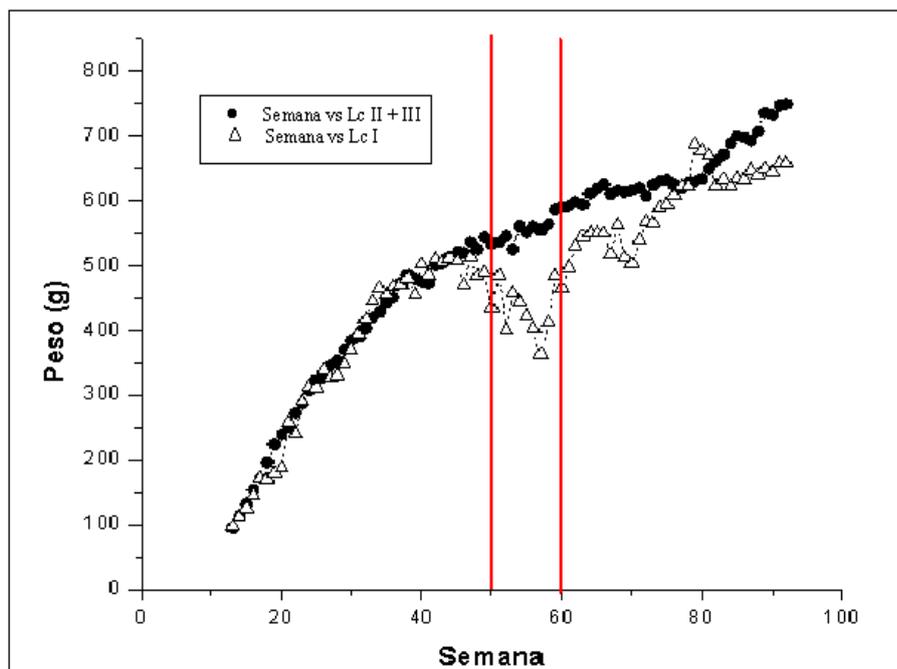
δ: Desvío Standard



**Fig. 7. 8.**

Grafico que muestra el crecimiento en peso (gramos) de hembras y machos de *L. crassicaudata* nacidas en el bioterio, comparando la suma de las camadas II y III contra la camada I, a través de 80 semanas. La camada I fue expuesta a una privación parcial de alimento entre las semanas 50 y 60.

**L.c.:** *L. crassicaudata*.      **H:** hembra.      **M:** macho



**Figura 7. 9.**

Curva de crecimiento del peso promedio de las camadas II y III (n=12) comparada con la del peso promedio de la camada I (n= 7) de *L. crassicaudata*, nacidas en el bioterio, a lo largo de 80 semanas.

En rojo se indica las semanas de privación parcial de alimento para la camada I.  
**L.c.:** *L. crassicaudata*.

### **7.3.2. Consideraciones finales de esta sección.**

La aparición de crías dentro del marsupio fue entre los 13 y 15 días, por lo que se deduce que el período de gestación corresponde a la misma cantidad de días y resulta acorde a lo descrito para *D. virginiana* (McCrary Jr 1938; Reynolds, 1952).

Para elegir el momento del destete se adoptó el criterio en base a las experiencias obtenidas en las primeras camadas nacidas en el Bioterio, fuera de los programas reproductivos (fue comentado en el **Capítulo 6: aspectos reproductivos**). Allí se observó que entre las 12 y 14 semanas las crías cometían canibalismo con la madre en horarios no observado por los operadores. Este evento coincidió con la disminución del tamaño y productividad de las glándulas mamarias maternas. También, en forma simultánea, las crías habían comenzado a compartir en forma progresiva la alimentación balanceada de la madre desde 1 o 2 semanas atrás. La suma de estos factores determinó la decisión de efectuar el destete en la semana antedicha.

Las crías se alojaron individualmente y no se realizó la técnica de desmadre como la utilizada en **Armadillos**, debido a las mismas consideraciones anteriores, para evitar agresividad entre los ejemplares.

La **Figura 7. 5.** Muestra un notable dimorfismo sexual desde el inicio de las mediciones. No pudimos establecer si la diferencia de peso por sexo era al nacimiento. Este dimorfismo llega hasta duplicar el peso de los machos respecto al de las hembras. Se ha referido en el **Capítulo 4: Características generales** que los ejemplares suelen pesar entre 600 y 1500 gramos, sin especificaciones acerca de la estación anual, las condiciones climáticas ni la oferta alimentaria circunstancial. Los datos obtenidos en el presente estudio difieren sensiblemente de aquellos. No obstante debemos recordar que los ejemplares de la Colonia se encuentran en condiciones ambientales de Bioterio y con una alimentación constante y homogénea a lo largo de todo el año, lo que amortigua las variaciones estacionales.

Las **Figuras 7. 6. y 7. 7.** que muestran la curva de crecimiento en peso promedio para las hembras y los machos de *L. crassicaudata* de las **Camadas II y III** respectivamente, comparten un patrón común que responde a una **Sigmoide** con pendiente bastante marcada, determinando un punto de inflexión poco evidente.

Los animales no pudieron ser pesados en el período de bolsa por su íntima y constante adhesión al pezón de la madre y tampoco durante la lactancia libre debido a la dificultad de identificarlos individualmente y por el riesgo a la agresión dentro del grupo en base a los antecedentes que se tenían. Es por esta razón que el inicio de la **Sigmoide** obtenida no presenta una pendiente suave al inicio de la misma, como si se visualiza en las curvas que comienzan con el peso de los ejemplares al nacimiento.

En dicha curva se observa un período de rápido crecimiento hasta la semana 40 aproximadamente, tanto para hembras como para machos. A partir de allí la pendiente de incremento de peso se hace menos pronunciada hasta la semana 80 aproximadamente, para ambos sexos, que demuestra un enlentecimiento del crecimiento.

A partir de allí se observa el período estacionario, una etapa de relativa estabilidad que va hasta la semana 100 y más allá. Este período de estabilidad se nota algo variable, sobre todo en machos. Podríamos adjudicar esta inestabilidad a factores intrínsecos de los animales (genética, sexo, etc.), aunque no podemos olvidar las consideraciones hechas en la **Introducción** del presente **Capítulo** acerca del período de **desarrollo**, que podría estar evidenciándose en esta etapa.

No debemos olvidar además que la cola de esta especie sirve como reserva nutricional y varía de grosor según el estado nutricional de los individuos, esta variación es bien marcada, no en vano uno de sus nombres vulgares es “coligrueso”. Frente a esta reflexión se desprende que futuros trabajos de control de crecimiento deberán contemplar la variación del grosor de la cola en su zona de inserción además de la evolución del peso corporal y correlacionar sus variaciones.

En la curva Sigmoidea se pueden distinguir dos regiones diferentes:

- a. Una fase de autoaceleración al principio de la vida, en la cual el potencial de crecimiento del animal es muy elevado y se realiza con ganancias importantes de peso en valor absoluto por unidad de tiempo.
- b. La segunda parte de la curva determina la fase de autoinhibición. A partir de cierta edad que generalmente corresponde con la pubertad, el potencial de crecimiento disminuye. Las ganancias de peso realizadas por unidad de tiempo son cada vez más pequeñas, hasta que finalmente el animal alcanza la madurez. En esta etapa la curva es de inclinación decreciente. El punto en que cesa la aceleración del crecimiento para iniciar la desaceleración del mismo, se conoce como punto de inflexión, que en los animales superiores coincide con la pubertad (Bavera y col. 2005). Dado que para algunos autores, el punto de inflexión de la curva representa la pubertad de los

ejemplares en estudio, se podría proponer una nueva hipótesis de trabajo que consiste en medir y comparar, en forma simultánea, la ganancia de peso a través del tiempo y la evolución temporal de la concentración sérica de las hormonas sexuales.

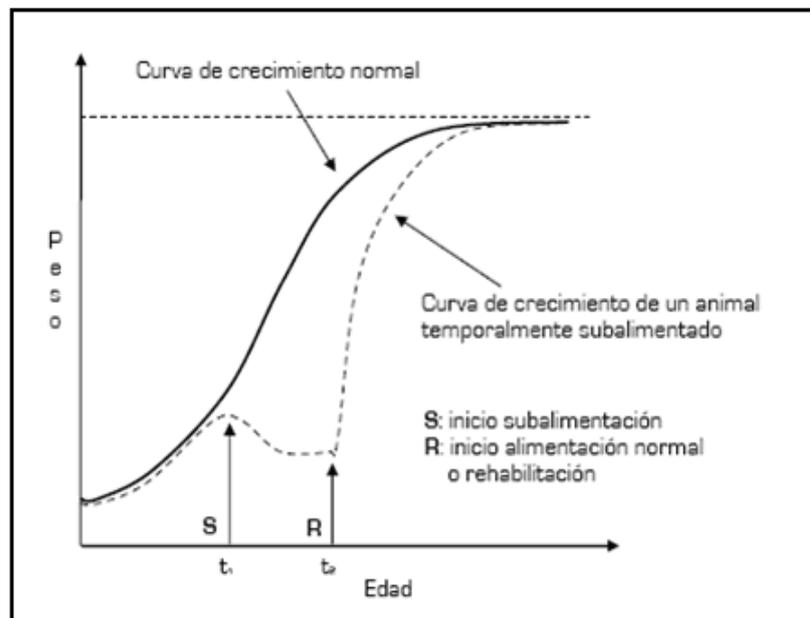
Adoptando esta hipótesis de coincidencia entre el punto de inflexión y la pubertad, siendo esta una época de profundos cambios hormonales y transformaciones fisiológicas definidas, serían importantes los datos obtenidos para establecer la equivalencia de edades entre especies y entre razas de una misma especie que tuvieran ritmos de crecimiento diferente, lo que permitiría hacer comparaciones de crecimiento entre ellas.

Si bien las curvas referidas responden a una estructura **Sigmoidea** muy bien ajustada, en la **Figura 7. 5.** puede observarse una relativa variabilidad, esta se manifiesta aún ente organismos del mismo sexo y camada, mantenidos en idéntica condiciones ambientales. Este hecho pone en evidencia una variabilidad de origen genético. Esta hipótesis deberá corroborarse con otras técnicas (tales como isozimas, etc.) para determinar mejor el tipo y la magnitud del posible polimorfismo. Tal característica y su influencia en la plasticidad al cambio selectivo, indican que *L. crassicaudata* respondería marcadamente a la presión de selección que pudiera llevarse a cabo en un plan de desarrollo de líneas puras de crianza (endo o exocriadas).

La **Figura 7. 7.** muestra la comparación entre el crecimiento en peso promedio de las hembras y machos de las **Camadas II y III** con respecto a las hembras y machos de la **Camada I.** Esta última sufrió una disminución de la alimentación en un 20 % de su ración habitual durante 10 semanas, entre las semanas 50 y 60 de vida. Aquí puede observarse que la ganancia de peso de ambos grupos y camadas comparados mantiene una paridad muy manifiesta. Esta consonancia se rompe al producirse la variación alimentaria. El trazado de la curva de las hembras y machos de la **Camada I** muestra altibajos durante el período de privación relativa de alimento. Al restablecerse la alimentación habitual a las 60 semanas de vida, se observa una fase compensación que lleva rápidamente los pesos de los animales en estudio a valores semejantes y aún mayores a los de las **Camadas II y III.** Esto ajusta perfectamente al llamado **Crecimiento compensatorio.**

El **Crecimiento compensatorio** es un aspecto de gran importancia práctica y de sumo interés en los animales de producción. Se puede definir como la capacidad que tienen los animales que han sido sometidos a períodos de subnutrición, de lograr recuperar la tendencia de la curva de crecimiento normal, cuando se les suministra alimento en cantidad y calidad adecuada.

En la **Figura 7. 10.** (Álvarez Zapata y Benezra S., 2004) se muestran las curvas de crecimiento de un animal con alimentación normal y de un animal que fue sometido a un período de subalimentación en el intervalo ( $t_1$ -  $t_2$ ). El crecimiento compensatorio se manifiesta en una tasa de crecimiento “anormalmente” alta durante el período, de rehabilitación. Varias explicaciones se han dado al crecimiento compensatorio. Una empírica pero interesante indica que la mal nutrición altera la relación entre la edad cronológica y la edad fisiológica del animal, retardando la curva de crecimiento del individuo puesto que su edad fisiológica sucede a una tasa inferior. Cuando estos animales se someten a un plano alto de alimentación, tienden a crecer de acuerdo con su edad fisiológica en lugar de crecer con su edad cronológica y, por lo tanto, al compararse con animales testigos que no han sufrido retardo, aquellos crecen más rápido.



**Fig. 7. 10.**

Se observa una curva de Crecimiento compensatorio de un animal que fue sometido a un período de subalimentación comparada con la curva de otro con alimentación normal (Álvarez Zapata y Benezra S., 2004).

Otras explicaciones más recientes son:

- Mayor consumo de alimento en los animales en rehabilitación con respecto a los animales con crecimiento normal de similar peso.
- Mayor eficiencia de conversión alimenticia.
- Menores requerimientos de mantenimiento.

La magnitud del crecimiento compensatorio dependerá de la fase del crecimiento o edad en la cual ocurre la subnutrición. A temprana edad, una subalimentación puede afectar irreversiblemente el crecimiento normal del individuo. Igualmente, una subnutrición intensa de la madre durante la gestación puede reducir el tamaño del feto en forma irreversible.

En estados relativamente avanzados del crecimiento del animal, se ha encontrado que existe una relación inversa entre la tasa de crecimiento durante la rehabilitación y la tasa de ganancia durante el periodo de subalimentación. Como es lógico, un mayor crecimiento compensatorio se observará cuando el plano de nutrición durante la rehabilitación es más alto (Álvarez Zapata y Benezra S., 2004).

En la **Figura 7. 9.** se observa la comparación de la curva del promedio de peso de las camadas II y II (n=12) comparada con la curva del peso promedio de la camada I (n=7) en *L. crassicaudata* nacidas en el bioterio, durante 80 semanas. Esta curva se ajusta en forma similar a la presentada en la **Figura 7. 10.** lo que sugiere que el comportamiento de crecimiento de los animales en estudio responde a los resultados obtenidos para otras especies de mamíferos.

Por último, se debe considerar que los valores mostrados en este trabajo fueron obtenidos bajo estrictas condiciones de cautiverio y de laboratorio, y con especiales instalaciones de mantenimiento y alimentación. Esto deberá compararse con estudios similares a campo para establecer si existen diferencias entre ambas observaciones.

Apoyándose en estos hechos, se puede inferir que este estudio original será de interés para el mundo de los Animales de Laboratorio No Tradicionales y sea de ayuda para ir completando los escasos conocimientos sobre la biología y del mantenimiento en bioterio de *L. crassicaudata*.

## **Capítulo 8.**

### **Determinación de parámetros sanguíneos de Armadillos y Zarigüeyas en condiciones de bioterio.**

#### **8. 1. Introducción.**

El estudio de los indicadores fisiológicos de los animales mantenidos en cautiverio es de gran importancia, ya que permite contar con una rápida herramienta diagnóstica que ofrece mucha información referida al estado de salud de los animales. Uno de los primeros sistemas que deben ser examinados es el sanguíneo, que cumple importantes funciones como el transporte de gases, nutrientes y eliminación de los desechos metabólicos que resultan de dichos procesos por distintas vías del organismo.

El perfil hematológico y bioquímico de la sangre resulta útil para conocer la fisiología y la adaptación de una especie al medio. El estudio de los parámetros hematológicos de un sujeto o grupo es de gran interés tanto para la comprensión de sus características biológicas en general y como de sus adaptaciones fisiológicas en particular. Establecer los parámetros básicos de valores hematológicos y de bioquímica sanguínea, resulta de gran interés para aplicar al diagnóstico de patologías en animales.

La hematología (del gr. hema=sangre, logo=estudio) es la rama de la ciencia biomédica que se encarga del estudio de los elementos formes de la sangre y sus precursores, así como de los trastornos estructurales y bioquímicos de estos elementos, que puedan conducir a una enfermedad. Implica, por lo tanto, la investigación de la sangre y los órganos hematopoyéticos (médula ósea, ganglios linfáticos, bazo, etc.) tanto sanos como enfermos.

Como especialidad clínica, la Hematología esta profundamente unida a los métodos de laboratorio, lo cual hace que el hematólogo clínico tenga que recurrir a ellos para efectuar la exploración directa de la sangre y de los órganos hematopoyéticos. Actualmente la especialidad engloba a cuatro facetas muy relacionadas entre si:

- la transfusión e inmunohematología,
- la morfología y biología hematológica,
- la hemostasia y trombosis y
- la clínica hematológica.

La Bioquímica sanguínea es un apartado importante de la analítica sanguínea. Implica la determinación de numerosos parámetros bioquímicos, es decir la concentración de diversas sustancias químicas transportadas por la sangre en un momento dado. Los parámetros bioquímicos representan la concentración de determinadas sustancias químicas que se encuentran en la sangre en el momento del análisis y su determinación sirve al profesional para abordar diferentes situaciones como:

- diferenciar estados de salud y enfermedad,
- establecer el diagnóstico precoz en individuos que no presentan signos o síntomas de estados patológicos.
- confirmar la sospecha diagnóstica en un sujeto o grupo con signos o síntomas patológicos,
- controlar la respuesta de los parámetros sanguíneos a adaptaciones fisiológicas o como respuesta a tratamientos terapéuticos o experimentales.

El estudio hematológico y bioquímico sanguíneo en los animales mantenidos en cautiverio es de suma importancia, ya que permite contar con una rápida herramienta diagnóstica que ofrece información referida al estado de salud de los animales silvestres llevados a cautividad.

En la práctica veterinaria cotidiana, dentro de la clínica poblacional de un Bioterio, la disponibilidad de pruebas de laboratorio confiables es de gran relevancia para el control sanitario, permitiendo monitorear el comportamiento fisiológico como respuesta a las condiciones de cautividad y planteando una aproximación al diagnóstico en casos de situaciones anómalas. Es muy importante en el estudio clínico, ya que puede aportar información de interés a la hora de confirmar un diagnóstico, seguir la evolución o determinar el grado de importancia de un proceso patológico. Tanto en uno como en otro caso la interpretación de los resultados pasa por la determinación de la normalidad de los datos obtenidos y, en su caso, del grado de desviación que presenta un parámetro frente a lo esperado. Esto es válido no solo para un individuo sino también para una población en estudio.

Hay que considerar que dados los avances tecnológicos ha habido un incremento sustancial en el número de procedimientos diagnósticos disponibles, muchos de los cuales se han aplicado en el laboratorio clínico veterinario y otros permanecen con confiabilidad desconocida con respecto al diagnóstico de enfermedades de los animales. El laboratorio clínico complementa el examen clínico poblacional y permite orientar o confirmar un diagnóstico presuntivo. Los resultados de laboratorio normales y anormales proporcionan

información objetiva para el diagnóstico diferencial, para formular un pronóstico y consecuentemente evaluar el tratamiento o la estrategia terapéutica a seguir.

Las mediciones y exámenes de laboratorio anormales se definen clínicamente como valores que se encuentran fuera de los límites de referencia, que se obtienen mediante muestras de una población sana y representativa.

El objetivo de esta parte de la Tesis es colaborar con el establecimiento de valores de referencia para distintos metabolitos y parámetros sanguíneos que sirvan de base para el diagnóstico y reconocimiento de enfermedades en las especies en estudio.

Para la actual evaluación hematológica se han determinado varios parámetros del hemograma y de la bioquímica sanguínea. Su elección responde a la información que brinda su aumento o disminución para evaluar la respuesta fisiológica a la cautividad y sus desviaciones patológicas. Esto no impide ni desmerece la futura investigación de otros parámetros que no revistan por el momento importancia clínica. A continuación se destaca la importancia y utilidad práctica de dichas cuantificaciones.

- ❖ Recuento de eritrocitos. Sinonimia: glóbulos rojos o hematíes. Los eritrocitos de los mamíferos presentan una morfología de discos bicóncavos, circulares y anucleados. Son producidos por la médula ósea estimulada por un factor humoral: la eritropoyetina. Su vida media varía según las especies. Son los elementos celulares cuantitativamente más numerosos de la sangre. La hemoglobina es uno de sus principales componentes y su objetivo es transportar el oxígeno hacia los diferentes tejidos del cuerpo. Su recuento sirve para evaluar estados clínicos generales, pero es impreciso para evaluar al propio glóbulo rojo. Se utiliza además para obtener índices hematimétricos. Su recuento puede variar con la edad y el estado fisiológico del sujeto. . La disminución del número de eritrocitos se denomina anemia, y se clasifican en varias formas teniendo en cuenta otros parámetros como el hematocrito, la hemoglobina y los índices hematimétricos, además de la cantidad absoluta de glóbulos rojos.
- ❖ Hematocrito (**Ht**). También denominado volumen celular aglomerado (**VCA**). Mide la masa eritrocítica con gran precisión. Nos marca la relación proporcional entre los glóbulos rojos y el plasma.
- ❖ Hemoglobina (**Hb**). Permite medir la capacidad de transporte de oxígeno por parte de los hematíes.

- ❖ Volumen corpuscular medio (**VCM**). Es un índice hematimétrico. Determina si la población de glóbulos rojos está constituida por células pequeñas grandes o estándares.
- ❖ Concentración de hemoglobina corpuscular media (**CHCM**). Es otro índice hematimétrico. Representa el porcentaje de hemoglobina en la masa eritrocítica. Junto al **VCM** nos permite evaluar la capacidad y eficiencia de los hematíes y clasificar los tipos de anemia.
- ❖ Índice de reticulocitos. Los reticulocitos son eritrocitos inmaduros, enucleados pero que aún poseen polirribosomas y mitocondrias, pueden aún sintetizar **Hb** y utilizar **O<sub>2</sub>**. Su presencia en la sangre periférica tiene aplicación para evaluar la actividad eritropoyética.
- ❖ Recuento de leucocitos. Sinonimia: glóbulos blancos. Los leucocitos son un conjunto heterogéneo de células sanguíneas que actúan protegiendo al organismo de diversas noxas. Son los efectores celulares de la respuesta inmune y de esta manera intervienen en la defensa del organismo contra sustancias extrañas o agentes infecciosos (antígenos). Se originan en la médula ósea y en el tejido linfático. Son células móviles que se encuentran y viajan en la sangre transitoriamente, pueden salir de los vasos sanguíneos y cumplir sus funciones en diversos órganos y tejidos. A diferencia de los eritrocitos, no contienen pigmentos, de allí su calificación de glóbulos blancos. Son células con núcleo, mitocondrias y otros orgánulos celulares. Su tiempo de vida es variable. Existen dos variedades principales. Los polimorfonucleares o granulocitos, que presentan núcleo polilobulado y gránulos en su citoplasma, se clasifican en:

- Neutrófilos,
- Eosinófilos y
- Basófilos;

y los mononucleares o agranulocitos, que presentan un núcleo redondeado y carecen de gránulos en su citoplasma, se clasifican en:

- Monocitos y
- Linfocitos.

Los granulocitos y los monocitos basan su sistema de defensa en la fagocitosis y los linfocitos en la producción de anticuerpos. El aumento de la cantidad de leucocitos se denomina leucocitosis y su disminución leucopenia. La modificación en más o en menos de la cantidad basal de leucocitos brinda

información acerca de la respuesta defensiva específica e inespecífica del organismo respecto a una agresión intrínseca o extrínseca. Para evaluar una respuesta leucocitaria es importante establecer el recuento porcentual de los diferentes tipos de leucocitos, esto se conoce como **fórmula leucocitaria**. Si el recuento responde a la cantidad por  $\text{mm}^3$  de sangre se la denomina fórmula absoluta y si representa el porcentaje de la variedad sobre la cantidad total de leucocitos se la denomina relativa. Esta última es la de uso más práctico y corriente y brinda una amplia información acerca del desempeño inmunológico del organismo.

- ❖ Recuento porcentual de neutrófilos. Al aumento se lo denomina neutrofilia y a su disminución neutropenia. Se contempla su forma segmentada que es la madura. Cumplen su función defensiva mediante la fagocitosis, avanzan por el torrente sanguíneo y salen de él invadiendo los tejidos vecinos mediante diapedesis. Lo hacen frente a la liberación de mediadores químicos proveniente de los tejidos afectados. El aumento de neutrófilos está relacionado con procesos inflamatorios y/o infecciosos de carácter agudo, en algunos casos también con el estrés prolongado. Las causas de neutropenia pueden ser de origen variado
- ❖ Recuento porcentual de linfocitos. Los linfocitos responden a los antígenos foráneos mediante la síntesis de inmunoglobulinas y el establecimiento de una respuesta celular directa. Al aumento se lo denomina linfocitosis y a su disminución linfopenia. Esta última está relacionada a procesos patológicos causados por sustancias, agentes físicos o microorganismos que impliquen la depresión o anulación del sistema inmunológico. Por otro lado la linfocitosis puede ser producto de situaciones de estrés prolongadas, estimulación antigénica prolongada y procesos hiperplásicos o neoplásicos específicos.
- ❖ Recuento de monocitos. Son producidos en el sistema retículoendotelial (**SER**). Actúan por fagocitosis y tienen una vida media en la sangre más prolongada que los neutrófilos. Su aumento o disminución absoluta o relativa se denominan monocitosis y monocitopenia respectivamente. La monocitosis puede señalar una inflamación supurativa crónica o estrés agudo.
- ❖ Recuento de eosinófilos. Se originan en la médula ósea. Se los encuentra no sólo en el torrente sanguíneo sino también se observan en forma cuantiosa en otras regiones como intestino, sistema respiratorio y vías urinarias; todas ellas puertas de entrada de agentes antigénicos. Estos leucocitos pueden reducir la inflamación

y de manera directa a ciertas formas parasitarias. La eosinofilia, aumento del número de eosinófilos, se la relaciona frecuentemente con los estados alérgicos y las parasitosis. Su disminución, eosinopenia, tiene relación con un aumento desmedido de los corticoides o con un estrés inflamatorio, traumático o tóxico prolongado.

Dentro de la investigación en bioquímica sanguínea se evaluaron los varios parámetros. A continuación se los describe y se resume su utilidad práctica.

- ❖ **Urea.** La urea es un producto final de la desaminación proteica, constituye el 50 % de las sustancias nitrogenadas no proteicas de la sangre. Es eliminada por el riñón. A la concentración de urea en sangre se la denomina **uremia**. Los niveles de urea en sangre pueden ser considerados como un índice de la eficiencia renal. Sin embargo el aumento de la uremia no necesariamente debe ser considerado proporcional al daño renal sospechado. Valores de uremia excesivamente altos pueden dar aparición a un conjunto de signos y síntomas patológicos que pueden involucrar hasta al sistema nervioso central (**SNC**). La urea se sintetiza en el hígado a partir del amoníaco (**NH<sub>3</sub>**). Valores de urea bajos pueden relacionarse con insuficiencia hepática. Del mismo modo, en animales silvestres si una dieta normalizada, los valores urémicos a los que puede estar indicado una dieta hipotrofica para esa especie.
- ❖ **Glucosa.** A la concentración de glucosa en sangre se la denomina **glucemia**. Los niveles de glucemia, evaluados aisladamente, tienen un limitado valor excepto en la diabetes. Siempre deben ser cuidadosamente relacionados con otros parámetros del metabolismo. Sin embargo, la glucemia es mantenida por el organismo dentro de niveles fisiológicos relativamente estrechos en cada especie animal. Diversos procesos mantienen esta homeostasis glucémica, entre ellos la gluconeogénesis y glucogenólisis hepáticas, la excreción y reabsorción renal, los efectos hormonales sobre el metabolismo tisular y la absorción intestinal.
- ❖ **Calcio.** Este mineral es importante para una amplia variedad de funciones normales del organismo como son la contracción muscular, la transmisión de impulsos nerviosos, la coagulación sanguínea, la excitabilidad neuromuscular y la permeabilidad de la membrana celular. El principal depósito de Calcio corporal se encuentra en los huesos. En la sangre se encuentra bajo varias formas:

- una forma inactiva asociada a proteínas séricas (sobre todo albúmina),
- una forma iónica, activa, no asociada a proteína y
- una fracción combinada con sustancias orgánicas tales como el citrato.

Cuando se mide el Calcio sérico en laboratorio se hace la determinación total de todas sus formas. A este valor se lo denomina **calcemia**. Al aumento del Calcio sérico se lo denomina hipercalcemia y a su disminución hipocalcemia. El valor de calcemia no varía mucho con la edad de los mamíferos, pero es muy notoria su variación en ciertos estados fisiológicos como la gestación y la lactancia. La hipercalcemia puede responder a diversos estados anómalos del propio metabolismo cálcico, como la hipofunción de la glándula paratiroides o excesos de Vitamina D. Dado que los niveles de Calcio sérico mantienen una estrecha relación proporcional con el Fósforo sérico, un aumento de éste conllevará una hipercalcemia. La hipercalcemia prolongada puede causar la precipitación del calcio en la capa íntima de los grandes vasos sanguíneos pericardíacos. La hipocalcemia también responde a diversos factores, algunos propios del metabolismo del Calcio como el hipoparatiroidismo y la deficiencia de Vitamina D. También lo producen una deficiente o inadecuada alimentación, la hipoalbuminemia, síndromes de mala absorción y disminuciones del Fósforo sérico, entre otros factores.

El calcio se almacena en el cuerpo en el hueso donde, en asociación con el fósforo y el magnesio, forma complejos que son los responsables de la rigidez esquelética. En los animales jóvenes, la deficiencia de calcio o fósforo, una inadecuada relación entre ellos, la deficiencia de vitamina D o una combinación de los estados anteriores, es causa de raquitismo. Este es un ablandamiento de los huesos que puede conducir a fracturas y deformidad. En los adultos, a este ablandamiento de los huesos debido a la mineralización ósea defectuosa, se lo denomina osteomalacia.

❖ **Fósforo inorgánico.** Aproximadamente el 80 % del fósforo total del organismo se encuentra en el esqueleto y los dientes. El restante está presente en los líquidos orgánicos en concentraciones variables. La función del fósforo, fuera del esqueleto, está relacionada con el metabolismo de los hidratos de carbono y con equilibrio ácido-base del organismo. El fósforo se presenta en sangre por lo menos en cuatro formas:

- fósforo inorgánico,

- lípidos fosforados,
- fósforo residual y
- fósforo orgánico.

Este último es más abundante que el inorgánico y se encuentra principalmente en los eritrocitos. El primero es que se determina y valora en los análisis clínicos. La determinación de los valores de fósforo orgánico no ofrece importancia clínica. La hiperfosfatemia puede hacer sospechar una insuficiencia renal crónica. Mientras que una hipofosfatemia puede estar relacionada con una deficiente o inadecuada nutrición, o un desequilibrio en su relación con el calcio, entre otros factores causales. La hipofosfatemia puede conducir a una hemólisis intravascular, de consecuencias severas.

- ❖ **Fosfatasa alcalina sérica (FASA).** Son catalizadores enzimáticos que desdoblan ácido fosfórico de ciertas formas esterificadas de fósforo. Su actividad sérica es la suma de actividades de diferentes isoenzimas derivadas de varios tejidos corporales. Se presenta en altas concentraciones en hueso, mucosa intestinal, corteza renal, placenta y bilis. Su incremento está relacionado con las alteraciones óseas y hepáticas. En el caso de las primeras se lo relaciona particularmente con las neoplasias óseas. En el caso de los segundos con las obstrucciones intra hepáticas y las neoplasias del mismo tejido. Algunas otras neoplasias como adenocarcinomas, y tumores mamarios también elevan su concentración sérica. El fenobarbital es un potente activador de la fosfatasa alcalina.
- ❖ **Transaminasas séricas (GOT y GPT).** La Glutámico oxalacético transaminasa (**GOT**), denominada en la actualidad Aspartato aminotransferasa (**AST**), se encuentra en altos niveles en el hígado, miocardio y músculo esquelético. La Glutámico pirúvico transaminasa (**GPT**), también llamada Alanina aminotransferasa (**ALT**), se localiza en grandes concentraciones fundamentalmente en el hígado. La destrucción de los hepatocitos puede liberar estas enzimas, con el incremento de su concentración plasmática. Los niveles altos de **GPT** sugieren la presencia de necrosis hepatocelular dado su mayor especificidad para este tejido. La actividad de **GOT** no es específica para la destrucción hepática, su incremento suele orientar las sospechas hacia estados patológicos que comprometan los músculos esqueléticos y/o el miocardio. Podríamos resumir que el aumento marcado de ambas transaminasas sugiere la

alteración del estroma hepático, con dudas acerca del estado del miocardio. Los altos niveles de **GOT** hacen pensar en una alteración puntual del tejido muscular cardíaco.

❖ **Amilasa sérica.** En los animales encontramos normalmente una ligera cantidad de amilasa proveniente del páncreas y glándulas salivares. La inflamación y alteración pancreática puede elevar sus niveles plasmáticos. Se denomina amilasemia a la determinación de sus valores normales para cada especie. La hiperamilasemia, aumento de los valores normales en suero, puede atribuirse también a la insuficiencia renal, el hipercorticismismo y factores que puedan elevar la producción hipofisaria y adrenal. Las modificaciones que surgen de la falla renal primaria están relacionadas con el deterioro de su depuración por la filtración glomerular.

❖ **Lípidos séricos totales.** Los lípidos séricos se dividen en:

- Triglicéridos
- Colesterol (libre y esterificado)
- Fosfolípidos y
- Ácidos grasos libres (sin esterificar).

La hiperlipidemia es la concentración anormalmente alta de triglicéridos y/o colesterol en la sangre. El suero lipémico (suero opaco o turbio) es el resultado del aumento de los triglicéridos séricos (hipertrigliceridemia). El aumento del colesterol (hipercolesterolemia) no se puede definir mediante el examen visual del suero o plasma.

Los triglicéridos son la principal forma en que los lípidos se almacenan y el tipo predominante de lípido dietético. La variabilidad de los valores hallados en suero depende fundamentalmente de la dieta del sujeto.

El colesterol es el precursor de sales biliares y esteroides endógenos. Su variabilidad sérica también va a estar relacionada con el metabolismo de estos compuestos. Los valores normales de colesterol, colesterolemia, pueden incrementarse por la oclusión del colédoco así como el reflujo biliar hacia la sangre. También se ven aumentados sus valores por la falta del servomecanismo inhibitorio normal debido a un metabolismo anormal de las lipoproteína. Otros motivos de hipercolesterolemia pueden ser: diabetes mellitus, hipotiroidismo, pancreatitis, hiperlipidemia postprandial, entre otros.

Los niveles de fosfolípidos sérico nos acercan un panorama del metabolismo lipídico general del organismo, dado que ellos cumplen funciones muy diversas dentro del mismo. Entre otras son componente estructural de la membrana celular, participan como segundos mensajeros en la transmisión de señales al interior de la célula activando enzimas, son componentes del surfactante pulmonar, son componente detergente de la bilis, interviene en la síntesis de sustancias de señalización celular como prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos.

- ❖ **Proteínas séricas totales.** Las proteínas séricas comprenden albúmina y globulinas. El fibrinógeno también es una proteína sanguínea, pero como se pierde en la coagulación, por lo que no corresponde a la porción sérica.

La concentración de proteínas en la sangre (proteinemia) determina la presión coloidosmótica del plasma. Dicha concentración puede estar influida por el estado nutricional del individuo, la función renal y la función hepática. Para una correcta determinación de la cantidad de proteína sérica el suero deber estar libre de hemólisis. La determinación de la concentración de de proteína sérica nos permite, entre otras posibilidades:

- Valorar el estado nutricional del individuo,
- Estudiar las funciones hepatorrenales,
- Investigar la competencia del **SER**,
- Determinar el equilibrio hídrico en estados de shock, deshidratación o hemorragia.

Los desórdenes que resultan en hipoproteinemia se deben a la hipoproducción o a una mayor pérdida de proteínas. La hipoproducción, sobre todo de albúmina puede asociarse con: malabsorción intestinal, insuficiencia pancreática exócrina, desnutrición, parasitosis o hepatopatías.

La mayor pérdida puede deberse a: Nefropatías, Enteropatías, Dermatitis severas, Ascites o Hemorragia crónica.

La hiperproteinemia sucede, por ejemplo, en la deshidratación, el shock, ciertas neoplasias e infecciones.

En general los niveles de proteinemia son bajos en los animales jóvenes con respecto a los adultos.

- ❖ **Albúmina.** El hígado elabora toda la albúmina y la mayoría de las globulinas, el resto de estas últimas es producido por el sistema retículoendotelial (**SER**). La albúmina es esencial como proteína plasmática de transporte y como

determinante mayor de la presión oncótica del plasma. Los niveles de síntesis y degradación se equilibran para mantener el equilibrio de dicha presión. Un servomecanismo que opera en la superficie del hepatocito ajusta el nivel de síntesis de albúmina.

Dado que puede encontrarse una hipoglobulinemia o una hiperglobulinemia independiente de la función hepática, es importante establece las proporciones relativas entre la albúmina sérica y las proteínas totales, esto se determina mediante la relación **Albúmina/Globulina**.

Esta resumida introducción al tema de Hematología y Bioquímica sanguínea puede ser ampliada con la consulta a Marek y Mócsy (1973), Schalm y col. (1981), Kelly (1983), Coffin (1986), Meyer y Harvey 1999), Kraft y Durr (2000) y Ford y Mazzaferro (2007).

## **8. 2. ARMADILLOS**

---

Los **armadillos** son mamíferos euterios, poseen una verdadera placenta que comunica en forma directa la vida fetal con la de su madre durante la totalidad de la gestación (Grassè, 1955; Walker, 1968; Wilson y Reeder 2005).

Habitan, en la actualidad, exclusivamente el continente americano y la mayor diversidad de especies se encuentra en América del Sur (Yepes, 1928; Walker, 1968; Wetzel, 1985; Wilson y Reeder, 2005).

Estas especies adquieren gran importancia en las ciencias biomédicas a principios de la década de 1970 cuando se descubre su susceptibilidad al *Mycobacterium leprae* y el posterior desarrollo de lepromas bacilares comparables a los del hombre (Storrs, 1971).

Sin embargo ya a principios del siglo XX llamó la atención de los investigadores otra característica biológica de algunos de estos mamíferos: su poliembrionía específica; siendo el argentino M. Fernández (1909) uno de los primeros en trabajar sobre el tema.

La pretérita y mantenida utilización de los Armadillos como Animales de Laboratorio No Tradicionales (ALNT) en diversas áreas de la investigación biomédica (Chapman 1901 ; Wislocki y Enders, 1935; Fernández 1939; Scholander y col. 1943; Talmage y Buchanan, 1954; Enders, 1960; Marin-Padilla y Bernirschke, 1963 y 1965; Anderson y Bernirschke, 1966; Daniel y Krishman, 1969; Burns y Waldrip 1971; Storrs y Greer, 1973; McNab, B. 1980. Storrs y Burchfield. 1984 y 1989; Baliña y col.1985; Galbreath 1985; Storrs y col., 1989; Poljak y col. 2004) hace imprescindible el establecimiento de colonias permanentes para la crianza de estas especies.

En nuestro país un gran número de investigadores ha utilizado estos modelos y lo sigue haciendo en diversos campos de la biomedicina. Las áreas de elección han sido la neurobiología y el comportamiento y las especies mayormente utilizadas han sido las del género *Chaetophractus* (De Nicola y Affanni 1971; Affanni, 1972; Affanni y col. 1973 y 1978; García Samartino y col. 1974; Affanni y García Samartino, 1984; Campagna y col. 1984; Papini y col. 1984; Ferrari y col. 1988; Benítez y col. 1994; Estecondo, 1995; Cervino, 1997 y 1999; Affanni y Cervino, 2005).

Cuando un modelo animal es adoptado para la investigación su conocimiento ontogénico resulta imprescindible. Esta etapa conlleva al conocimiento detallado de las condiciones de cría y mantenimiento en cautividad bajo condiciones de laboratorio.

Las instalaciones y los sistemas de crianza y mantenimiento de estos Armadillos deben adecuarse a sus necesidades, tal como fue descrito precedentemente en esta tesis y publicado también en otras oportunidades (Iodice, 1987; Iodice y Affanni, 1988 b).

El control sanitario se transforma en un factor esencial para mantener a los Armadillos en óptimo estado de bienestar y adecuada utilización experimental.

En los animales recién incorporados a la colonia, además de controlar la posible transmisión de enfermedades zoonóticas y no zoonóticas, es importante establecer sus niveles de salud. Es fundamental estar atentos a la aparición de cualquier modificación orgánica o conductual, dado que estos estados alterados pueden deberse tanto a patologías adquiridas en la naturaleza, como también ser consecuencia del estado de cautividad.

Esto, no sólo permitirá diagnosticar los estados patológicos en forma precoz, sino que también impedirá la aparición y difusión de diversas noxas dentro de la colonia.

Para dar cumplimiento a estas premisas es necesario, entre otros factores, tener valores clínico-fisiológicos de referencia para establecer el límite entre el estado de salud y enfermedad de estos animales. Para ello se debe poner a punto técnicas que nos permitan obtener muestras confiables para ser analizadas y establecer un perfil de laboratorio que resulte una herramienta eficaz en el cuidado de estos **ALNT**.

### **8. 2. 1. Hemograma y valores bioquímicos sanguíneos de *Chaetophractus villosus* (Peludo) y *Chaetophractus vellerosus* (Piche llorón) mantenidos bajo condiciones de bioterio<sup>12</sup>.**

Varios autores han reportado metodologías de toma de muestras sanguíneas y valores hemáticos en varios géneros de Armadillos con diversos fines investigativos.

Escobar Gutiérrez y Amezcua de Bernés (1981), reportan la técnica de punción cardíaca o de vena safena de miembros posteriores, en forma indistinta, para la toma de muestras sanguíneas en el género *Dasypus*. Emplean aguja común o tipo “mariposa” (“butterfly”) en forma indiferente. Sugieren anestésiar con Clorhidrato de Ketamina a dosis de 25 mg/kg de peso para las maniobras complejas o invasivas.

En la **Tabla 8. I.** y **8. II.** se detallan los valores hematológicos publicados por Escobar Gutiérrez y Amezcua de Bernés (1981).

---

<sup>12</sup> Parte de la información presentada a continuación fue comunicada en forma de póster como: “Hemogram and blood values of *Chaetophractus villosus* and *Chaetophractus vellerosus* reared under laboratory conditions.”. Iodice y col. 1986 b. Regional / International Meeting on Laboratory Animals. ICLAS-CEMIB-FESBE. Aguas de Lindoia, Brasil

**Tabla 8. I.:**

Constantes hematológicas de *D. hybridus* (especie sudamericana) comparadas con las de *D. novemcinctus* (especie norteamericana), según Escobar Gutiérrez y Amezcua de Bernés (1981).

	<i>D. hybridus</i>		<i>D. novemcinctus</i>	
	Cautivo	Silvestre	Cautivo	Silvestre
Ht (mL/ 100 mL)	40,07	49,30	--	39,6
Eritrocitos (millones/mm <sup>3</sup> )	5,98	7,47	--	6,08
Hb (g/dL)	16,49	15,00	--	11,8
Volumen Corpuscular Medio	67,67	66,00	--	63,8
Hemoglobina Globular Media	27,76	20,10	--	18,5
Concentración Media de Hemoglobina Globular	41,43	30,60	--	29,0
Leucócitos (miles/mm <sup>3</sup> )	9,25	8,94	8,84	7,53
Neutrófilos (%)	58	57	33	52
Eosinófilos (%)	3	5	4	4
Basófilos (%)	0,5	1	0,7	0
Monocitos (%)	4,5	12	0,7	15
Linfócitos (%)	33,25	25	52	30
Referencias	Cuba-Caparó, 1977	Purtilo y col., 1975.	Purtilo y col., 1975.	Amezcua y col., 1978.

**Tabla 8. II.:**

Proteínas séricas de *D. novemcinctus* (especie norteamericana), expresadas en g/dL. Según Escobar Gutiérrez y Amezcua de Bernés (1981).

<b>Proteínas Séricas</b>		
Proteínas Totales	8,74	7,56
Globulina alfa 1	0,74	0,92
Globulina alfa 2	0,80	1,05
Globulina beta	1,42	1,48
Globulina gama	1,24	0,92
Referencias	Lewis y Doyle, 1964.	Amezcua y col., 1978.

Casanave y Polini (1999), determinaron varios parámetros hematológicos de *C villosus*. Realizaron una interesante comparación entre dos poblaciones de ejemplares en estado silvestre, una de Buenos Aires (38° 43' S; 62° 16' O) (**Población I**) y la otra de La Pampa (38° 05' S; 63° 26' O) (**Población II**), ambas provincias de Argentina. En las **Tablas 8. III. a.** y **8. III. b.** se pueden observar los datos reportados por dichos autores.

Por su parte Bermúdez (2003), en su Tesis Doctoral, trabajando con *C. villosus*, destaca la buena tolerancia de los peludos a la punción cardíaca. Subraya además la

disminución del recuento leucocitario en los ejemplares en cautividad y propone a esta especie como modelo para el estudio de la hemostasia.

Luaces y col. (2005) proponen un método de extracción de muestras sanguíneas en varios géneros de Armadillos mediante la punción de la arteria coccígea media; especificando materiales y detalles de la técnica, sin necesidad de sedación previa.

**Tabla 8. III. a.**

Parámetros hematimétricos para *C. villosus* según Casanave y Polini (1999).

Parámetros	Buenos Aires (Nueva Roma) (n = 25) <sup>a</sup>	La Pampa (Jacinto Aráuz) (n = 30) <sup>a</sup>	Ambos grupos (n = 55) <sup>a</sup>
RBC ( $\times 10^6 \mu\text{l}$ )	4.06 $\pm$ 0.55 (2.90–5.10)	3.59 $\pm$ 0.53 (2.10–4.57)	
HCT (%)	36.3 $\pm$ 3.9 (28–46)	33.1 $\pm$ 4.5 (22–42)	
Hb (g/dl)	11.4 $\pm$ 1.5 (9.2–14.4)	10.5 $\pm$ 1.6 (9.1–13.7)	
MCV (fl)	90.4 $\pm$ 9.9 (69.5–115.6)	92.6 $\pm$ 3.3 (88.7–104.8)	91.6 $\pm$ 7.1 (69.5–115.6)
MCH (pg)	28.4 $\pm$ 4.0 (20.6–37.5)	29.3 $\pm$ 1.6 (27.0–36.6)	28.9 $\pm$ 2.9 (20.6–37.5)
MCHC (g/dl)	31.5 $\pm$ 2.5 (26.3–35.8)	31.7 $\pm$ 2.1 (27.7–38.8)	31.6 $\pm$ 2.2 (26.3–38.8)
ESR (mm/dl)	57 $\pm$ 29 (15–135)	72 $\pm$ 41 (15–150)	65 $\pm$ 36 (15–150)

<sup>a</sup> Número de animales examinados  
 RCB: recuento de eritrocitos  
 HCT: hematocrito  
 Hb: hemoglobina  
 MCV: volumen corpuscular medio  
 MCH: hemoglobina corpuscular media  
 MCHC: concentración de hemoglobina corpuscular media  
 ESR: eritrosedimentación

( $\pm$  : 1 desvío standard; **entre paréntesis**: rango)

**Tabla 8. III. b.**

Conteo diferencial de leucocitos para *C. villosus* según Casanave y Polini (1999).

Parámetros	Buenos Aires (Nueva Roma) (n = 25) <sup>a</sup>	La Pampa (Jacinto Aráuz) (n = 30)	Ambos grupos (n = 55)
WBC ( $\mu\text{l}$ )	10126 $\pm$ 5170 (4500–25300)	9375 $\pm$ 5468 (3000–26500)	9717 $\pm$ 5300 (3000–26500)
Neutrophils (%)	52.6 $\pm$ 12 (28–77)	50.3 $\pm$ 14 (28–80)	51 $\pm$ 13 (28–80)
Eosinophils (%)	3.9 $\pm$ 2.8* (0–9)	6.9 $\pm$ 5.6* (0–20)	
Basophils (%)	1.5 $\pm$ 1.9 (0–6)	1.7 $\pm$ 1.4 (0–4)	1 $\pm$ 2 (0–6)
Lymphocytes (%)	34.3 $\pm$ 11.5 (14–65)	36.5 $\pm$ 13.7 (7–58)	36 $\pm$ 13 (7–65)
Monocytes (%)	6.8 $\pm$ 2.8 (3–13)	5.1 $\pm$ 2.7 (2–11)	6 $\pm$ 3 (2–13)

<sup>a</sup> Número de animales examinados  
 \* Diferencia significativa:  $p < 0.05$ .  
 WBC: recuento de glóbulos blancos

( $\pm$  : 1 desvío standard; **entre paréntesis**: rango)

Por su parte, Gallino y col. (2005), determinaron los valores leucocitarios a campo de varios géneros de **Armadillos** en diversas localidades de distintas provincias de la Argentina. Dentro del conjunto de determinaciones realizadas por estos autores, en la **Tabla 8. IV.** se detallan los valores correspondientes a las dos especies de interés para esta Tesis: *C. villosus* y *C. vellerosus*.

**Tabla 8. IV.**

Valores obtenidos en el recuento de glóbulos blancos para *C. villosus* y *C. vellerosus* en distintas localidades de la Argentina. (Según Gallino y col 2005).

Localidad	Leucocitos ( miles/mm <sup>3</sup> )	
	<i>C. villosus</i>	<i>C. vellerosus</i>
Bahía Blanca 38° 42' S – 62° 15' O (Prov. Buenos Aires)	26.534 (34.000-7.900) (n= 51)	12.613 (30.000-1400) (n= 15)
Jacinto Aráuz 38° 05' S – 63° 25' O (Prov. La Pampa)	20.592 (34.000-8.000) (n= 27)	--
Navarro 35° 00' S – 59° 16' O (Prov. Buenos Aires)	25.000 (34.000-16.000) (n= 2)	--
Gral. Madariaga 37° 04' S – 57° 07' O (Prov. Buenos Aires)	6.467 (n= 1)	--
Pipinas 35° 31' S – 57° 19' O (Prov. Buenos Aires)	--	8.386 (10.600-5.000) (n= 7)
Taco Ralo 27° 50' S – 65° 11' O (Prov. Tucumán)	--	3.886 (9.600-700) (n= 9)
Roque Saenz Pena 26° 47' S – 60° 26' O (Prov. Chaco)	--	27.500 (45.000-10.000) (n= 2)

n= número de ejemplares.  
Entre paréntesis: rango

Si bien los datos de Gallino y col. (2005) presentan valores muy diversos y dispersos, no deja de ser un aporte importante al conocimiento de los valores sanguíneos de los animales en estudio. En la comunicación publicada por escrito no se especifica la metodología para la toma de muestras.

En coincidencia con la temática del presente Capítulo y con los lineamientos de esta Tesis, es de destacar el relevante trabajo del grupo liderado por la Dra. E. Casanave de la Cátedra de Fisiología Animal de la Universidad del Sur (Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina), algunos de cuyos reportes se mencionan a continuación: Bermúdez y col. (2001, 2002 y 2004); Casanave y col. (2005 y 2006); Casanave y Galíndez (2008); Polini y Casanave (1998); Polini y col. (1999 y 2001); Tentoni col. (2005 y 2007).

### **Objetivos:**

En esta parte de la Tesis se describe la metodología de toma de muestras sanguíneas y se exponen en tablas los valores sanguíneos de referencia para dos especies de Armadillos: *Chaetophractus villosus* (Peludo) y *Chaetophractus vellerosus* (Piche llorón).

### **Materiales y método:**

Fue tomado un lote de animales del género *Chaetophractus*, correspondientes a las especies *C. villosus* y *C. vellerosus*, pertenecientes a la Colonia de Armadillos y Marsupiales del Instituto de Neurociencia.

En ellos fueron determinados los conteos de hematíes y leucocitos y los volúmenes y concentraciones de hemoglobina intraglobulares, dentro de los estudios hematimétricos. Así mismo se determinaron valores de bioquímica sanguínea como: albúmina, amilasa, calcio, colesterol, fosfatasa alcalina, fósforo, glucosa, GOT (glutámico-oxalacético transaminasa), denominada también aspartato aminotransferasa (AST), GPT (glutámico-pirúvico transaminasa), también llamada alanina aminotransferasa (ALT), lípidos totales, fosfolípidos, triglicéridos, proteínas totales, relación albúmina-globulina, urea.

Se confeccionaron tablas comparativas con los datos obtenidos.

Se muestrearon diecisiete (17) ejemplares de *C. Villosus*, once (11) hembras y seis (6) machos y doce (12) de *C. vellerosus*, seis (6) hembras y seis (6) machos. Todos adultos, mantenidos y adaptados por más de un año a las condiciones de laboratorio ya descriptas (Iodice, 1987; Iodice y Affanni, 1988 b).

La alimentación consistió en alimento balanceado para caninos con una composición centesimal descrita en la **Tabla 8.V**.

**Tabla 8. V.**

Composición centesimal mínima del alimento balanceado utilizado.

Proteínas totales (mínimo)	20 % - 23%
Materia grasa	5 %
Materias minerales totales	10 %
Calcio	1,7% - 2 %
Fósforo disponible	1% - 1,6 %
Fibra cruda	3 - 5 %
Cloruro de sodio	0,7 %
Minerales totales	10% - 12%
Proteínas digeribles (mínimo)	17 %
Energía metabolizable (cal / kg)	2800 - 3000
Humedad (máxima)	10 %

El agua fue administrada *ad-libitum*, recibieron entre 200 y 250 g de alimento sólido por día dependiendo de la especie y estado nutricional general.

Para la toma de muestras los animales fueron anestesiados con una asociación de drogas (sedante + anestésico) de uso rutinario en el ámbito veterinario: Acetilpromazina y Clorhidrato de Ketamina, a dosis de 1 mg/kgpv y 30 mg/kgpv respectivamente. Se sumó Sulfato de Atropina 0,1 mg/kg para evitar efectos secundarios indeseables en el SNA. Se utilizó la vía intramuscular, todas las drogas se administraron en la misma jeringa.

Las muestras fueron extraídas por punción cardíaca bajo condiciones de asepsia controlada. Se utilizaron agujas 25 x 0,8 (21 G 1) para *C. vellerosus* y 40 x 0,8 (21 G 1 ½) para *C. villosus* y jeringas de 3 mL. Para el material destinado a estudios hematológicos se utilizó EDTA como anticoagulante.

Para los estudios de bioquímica sanguínea se optimizó la separación del suero por centrifugación.

Los estudios de células y bioquímica sanguínea fueron realizados en laboratorios independientes. El hematocrito se obtuvo por microhematocrito, la hemoglobina se determinó a través del método colorimétrico, el recuento de hematíes se efectuó con cámara de Thoma, el de leucocitos con cámara de Neubauer y el porcentaje de reticulocitos por coloración vital.

Para las determinaciones bioquímicas sanguíneas se utilizaron kits comerciales de los laboratorios Boehringer y Wiener.

Las muestras fueron extraídas y analizadas entre los meses de julio y agosto.

## **Resultados.**

En las Tablas **8. VI. a., b. y c.** se muestran los datos del hemograma obtenidos de hembras y machos de *C. villosus*, y su tratamiento estadístico. En las Tablas **8. VII. a., b. y c.** se muestran los datos de bioquímica sanguínea obtenidos de hembras y machos de *C. villosus*, y su tratamiento estadístico.

En las Tablas **8. VIII. a., b. y c.** se muestran los datos del hemograma obtenidos de hembras y machos de *C. vellerosus*, y su tratamiento estadístico. En las Tablas **8. IX. a., b. y c.** se muestran los datos de bioquímica sanguínea obtenidos de hembras y machos de *C. vellerosus*, y su tratamiento estadístico.

Para la comparación estadística se utilizó un ANOVA de dos Factores, con un factor = especie y otro factor = sexo. Para aislar cual grupo difiere del otro se utilizó

comparaciones múltiples utilizando el test de Bonferroni. El paquete estadístico utilizado fue el SigmaStat 3.5 (Systat Software Inc., Germany). Se trabajó con un nivel de significación de  $P < 0,05$ .

**Abreviaturas de las siguientes tablas:**

<b>C. vi.</b>	<i>Chaetophractus villosus</i>
<b>C. ve.</b>	<i>Chaetophractus vellerosus</i>
<b>H 1</b>	Hembra n°
<b>M 1</b>	Macho n°

<b>Estadística:</b>	
<b>M:</b>	Media aritmética
<b>D E:</b>	Desvío estándar.
<b>E S M:</b>	Error estándar medio.
<b>IC:</b>	Intervalo de confianza.
<b>m:</b>	Mediana

<b>Bioquímica sanguínea:</b>	
<b>Ur:</b>	Urea (mg %)
<b>Glu:</b>	Glucemia (mg %)
<b>Ca:</b>	Calcio (mg %)
<b>P:</b>	Fósforo inorgánico (mg %)
<b>FASA:</b>	Fosfatasa alcalina (mg %)
<b>GPT:</b>	Glutámico-pirúvico transaminasa (UI/L)
<b>GOT:</b>	Glutámico-oxalacético transaminasa (UI/L)
<b>Ami:</b>	Amilasa (UI/L)
<b>Líp:</b>	Lípidos totales (mg/dL)
<b>Trig:</b>	Tnglicéridos (mg/dL)
<b>Col:</b>	Colesterol (mg/dL)
<b>Fos:</b>	Fosfolípidos (mg/dL)
<b>Prot:</b>	Proteínas totales (g/dL)
<b>Alb</b>	Albumina (g/dL)
<b>A/G</b>	Relación albúmina/globulina

<b>Hemograma:</b>	
<b>g. r.:</b>	Glóbulos rojos o hematíes (millón/mm <sup>3</sup> ).
<b>Ht:</b>	Hematocrito (%).
<b>Hb:</b>	Hemoglobina (g/dL)
<b>VCM:</b>	Volumen corpuscular medio (μ <sup>3</sup> ).
<b>CHCM:</b>	Concentración de hemoglobina corpuscular media (%).
<b>I. R.:</b>	Índice de reticulocitos (% reticulocitos).
<b>g. b.:</b>	Glóbulos blancos o leucocitos (mil/mm <sup>3</sup> ).
<b>Neu:</b>	Neutrófilos segmentados (%).
<b>Lin:</b>	Linfocitos (%).
<b>Mon:</b>	Monocitos (%).
<b>Eos:</b>	Eosinófilos (%).

**Tabla 8. VI. a.**

Valores hematimétricos de *Chaetophractus villosus* hembras adaptadas a las condiciones de bioterio por más de seis meses.

<b>HEMBRAS</b>											
<b>Hemograma</b>	<b>g. r.</b>	<b>Ht</b>	<b>Hb</b>	<b>VCM</b>	<b>CHCM</b>	<b>I. R.</b>	<b>g. b.</b>	<b>Neu</b>	<b>Lin</b>	<b>Mon</b>	<b>Eos</b>
<i>C. villosus</i>											
<b>C.vi. H 1</b>	3,49	31	10.3	79	38	0	5,50	42	22	20	16
<b>C.vi. H 2</b>	4,28	40	13.3	95	33	0	6,00	50	22	14	14
<b>C.vi. H 3</b>	3,76	38	12.8	89	35	2.5	6,20	53	20	16	11
<b>C.vi. H 4</b>	3,85	39	13.6	95	31	2	6,50	54	19	15	12
<b>C.vi. H 5</b>	4,00	37	13.8	92.5	37	3.5	6,20	59	21	10	10
<b>C.vi. H 6</b>	4,59	32	17.6	70	44	3	4,40	44	28	15	13
<b>C.vi. H 7</b>	5,34	31	10.8	78	28	0	6,00	59	19	13	9
<b>C.vi. H 8</b>	3,60	37	12.9	102	34	3	9,60	42	30	18	10
<b>C.vi. H 9</b>	3,58	35	10.2	100	26	5	3,30	45	31	14	10
<b>C.vi. H 10</b>	3,75	40	19.1	112	31	3	7,00	46	30	18	6
<b>C.vi. H 11</b>	3,18	47	15.5	103	27	7	6,90	44	28	20	8

**Tabla 8. VI. b.**

Valores hematimétricos de *Chaetophractus villosus* machos adaptados a las condiciones de bioterio por más de seis meses.

MACHOS											
Hemograma	g. r.	Ht	Hb	VCM	CHCM	I. R.	g. b.	Neu	Lin	Mon	Eos
<i>C. villosus</i>											
C.vi. M 1	4,97	48	13.3	97	27	0	5,50	44	40	8	8
C.vi. M 2	4,56	38	14.8	96	39	0	5,60	53	21	14	12
C.vi. M 3	4,43	35	15.2	100	38	2	5,90	44	25	20	11
C.vi. M 4	3,62	44	14.7	122	33	0	5,00	42	32	16	10
C.vi. M 5	5,56	39	15.8	89	48	6	7,70	46	26	16	12
C.vi. M 6	4,40	43	16.6	97	38	3	6,10	40	26	24	10

**Tabla 8. VI. c.**

Estadística descriptiva de los valores hematimétricos de *Chaetophractus villosus* hembras (n=11) y machos (n=6) adaptados a las condiciones de bioterio por más de seis meses.

<i>C. villosus</i>	HEMBRAS					MACHOS				
	M	DE	ESM	IC	m	M	DE	ESM	IC	m
Hemograma										
g. r.	3,947	0,600	0,181	0,403	3,760	4,590	0,646	0,264	0,678	4,495
Ht	37,0	4,7	1,4	3,2	37,0	41,2	4,7	1,9	4,9	41,0
Hb	13,63	2,85	0,86	1,92	13,30	15,07	1,12	0,46	1,17	15,00
VCM	92,3	12,5	3,8	8,4	95,0	100,7	11,3	4,6	11,9	97,0
CHCM	33,1	5,3	1,6	3,6	33,0	37,2	6,9	2,8	7,3	38,0
I. R.	2,6	2,2	0,6	1,4	3,0	1,8	2,4	0,9	2,5	1,0
g. b.	6,145	1,580	0,476	1,062	6,200	5,967	0,929	0,379	0,975	5,750
Neu	48,9	6,4	1,9	4,7	46,0	44,8	4,5	1,8	4,7	44,0
Lin	24,5	4,8	1,4	3,2	22,0	28,3	6,7	2,7	7,0	26,0
Mon	15,7	3,1	0,9	2,1	15,0	16,3	5,4	2,2	5,7	16,0
Eos	10,8	2,8	0,8	1,9	10,0	10,5	1,5	0,6	1,6	10,5

**Tabla 8. VII. a.**

Valores de bioquímica sanguínea de *Chaetophractus villosus* hembras adaptadas a las condiciones de bioterio por más de seis meses.

HEMBRAS															
Bioq.Sang.	Ur	Glu	Ca	P	FASA	GPT	GOT	Ami	Líp	Trig	Col	Fos	Prot	Alb	A/G
<i>C. villosus</i>															
C.vi. H 1	72	91	12,8	4	32	15	13	510	7,2	1	307	5,8	6,1	3,3	1,7
C.vi. H 2	72	81	10,4	4,3	29	9	19	490	13	1,4	360	5,5	7,6	4,3	1,3
C.vi. H 3	89	102	9,7	3,8	33	8	19	430	15	0,9	416	6,7	7,8	4	1,05
C.vi. H 4	69	78	7	3,7	35	8	41	450	13	0,8	430	9,7	7,5	3,2	0,74
C.vi. H 5	72	101	11	4,5	37	16	33	430	7,6	0,7	360	10,1	7,3	2,9	0,65
C.vi. H 6	87	103	9,9	3,8	32	8	36	460	5,6	0,1	338	7,9	8,1	3,7	0,84
C.vi. H 7	83	98	11,2	4,3	36	6	31	490	6,4	0,1	350	5,1	6,9	2,6	0,6
C.vi. H 8	71	84	11,4	4,1	39	7	23	480	4,8	0,1	384	9	7,2	3,8	1,11
C.vi. H 9	73	78	10,1	4,1	38	16	27	470	12,9	1,8	260	5,6	8,8	3	0,51
C.vi. H 10	62	93	10,3	3,4	46	12	31	470	7,1	2,6	330	4,2	6,9	3,1	0,81
C.vi. H 11	72	107	10,3	3,1	46	8	13	490	10	2,4	282	4,4	7,3	2,7	0,58

**Tabla 8. VII. b.**

Valores de bioquímica sanguínea de *Chaetophractus villosus* machos adaptados a las condiciones de bioterio por más de seis meses.

MACHOS															
Bioq.Sang C. villosus	Ur	Glu	Ca	P	FAS A	GP T	GO T	Am i	Lí p	Tri g	Co l	Fo s	Pro t	Al b	A/ G
C.vi. M 1	84	64	12,4	5	26	9	27	450	11	1,2	376	7,2	7,1	4,1	1,36
C.vi. M 2	57,5	111	8,7	3,8	42	6	27	450	10	0,7	282	5,5	6,1	3,7	1,54
C.vi. M 3	55,3	69,4	8,4	2,2	44	6	24	460	8,8	0,7	220	9,7	7	3,1	0,79
C.vi. M 4	53	65	9,6	3,4	52	16	31	470	7,8	3,5	206	4,3	7,4	3,2	0,76
C.vi. M 5	86	102	10,1	3,4	38	8	34	460	8,5	2,6	277	3,1	8,4	2,9	0,52
C.vi. M 6	61	94	10,1	4,3	38	14	39	490	8,5	1,8	222	3,9	8	2,8	0,53

**Tabla 8. VII. c.**

Estadística descriptiva de los valores de bioquímica sanguínea de *Chaetophractus villosus* hembras (n=11) y machos (n=6) adaptados a las condiciones de bioterio por más de seis meses.

C. vill Bio.Sa.	HEMBRAS					MACHOS				
	M	D.E.	E.S.M.	IC	m	M	D.E.	E.S.M.	IC	m
Ur	74,72	8,15	2,46	5,47	72,00	66,13	14,86	6,07	15,60	59,25
Glu	92,36	10,6	3,22	7,17	93,00	84,23	20,62	8,42	21,64	81,70
Ca	10,37	1,42	0,43	0,95	10,30	9,88	1,42	0,58	1,49	9,85
P	3,92	0,41	0,12	0,28	4,00	3,68	0,95	0,39	0,99	3,60
FASA	36,6	5,5	1,6	3,7	36,0	40,0	8,6	3,5	9,0	40,0
GPT	10,3	3,7	1,1	2,5	8,0	9,8	4,2	1,7	4,4	8,5
GOT	26,0	9,3	2,8	6,3	27,0	30,3	5,5	2,2	5,7	29,0
Ami.	470,0	25,7	7,7	17,2	470,0	463,3	15,1	6,1	15,8	460,0
Lip	9,33	3,57	1,08	2,40	7,60	9,10	1,18	0,48	1,23	8,65
Trig	1,08	0,88	0,27	0,59	0,90	1,75	1,12	0,46	1,18	1,50
Col	347,0	52,1	15,7	34,9	350,0	263,8	63,4	25,9	66,54	249,5
Fos	6,73	2,12	0,64	1,42	5,80	5,62	2,46	1,00	2,58	4,90
Prot	7,41	0,70	0,21	0,47	7,30	7,33	0,81	0,33	0,85	7,25
Alb	3,33	0,55	0,17	0,37	3,20	3,30	0,50	0,20	0,53	3,15
A/G	0,899	0,362	0,109	0,243	0,810	0,917	0,432	0,176	0,453	0,775

**Tabla 8. VIII. a.**

Valores hematimétricos de *Chaetophractus vellerosus* hembras adaptadas a las condiciones de bioterio por más de seis meses.

<b>HEMBRAS</b>											
<b>Hemograma</b>	<b>g. r.</b>	<b>Ht</b>	<b>Hb</b>	<b>VCM</b>	<b>CHCM</b>	<b>I. R.</b>	<b>g. b.</b>	<b>Neu</b>	<b>Lin</b>	<b>Mon</b>	<b>Eos</b>
<i>C. vellerosus</i>											
<b>C.ve. H 1</b>	3,44	34	12,5	100	36	5	3,80	48	38	14	0
<b>C.ve. H 2</b>	3,52	35	15,1	100	43	5	5,20	46	26	18	10
<b>C.ve. H 3</b>	3,24	35	18,4	191	52	3	5,00	42	28	24	6
<b>C.ve. H 4</b>	4,55	37	18,8	156	50	0	5,30	46	32	22	0
<b>C.ve. H 5</b>	3,95	38	14,6	126	44	2	4,90	51	24	16	9
<b>C.ve. H 6</b>	4,10	36	15,6	138	41	1	5,10	53	27	12	8

**Tabla 8. VIII. b.**

Valores hematimétricos de *Chaetophractus vellerosus* machos adaptados a las condiciones de bioterio por más de seis meses.

<b>MACHOS</b>											
<b>Hemograma</b>	<b>g. r.</b>	<b>Ht</b>	<b>Hb</b>	<b>VCM</b>	<b>CHCM</b>	<b>I. R.</b>	<b>g. b.</b>	<b>Neu</b>	<b>Lin</b>	<b>Mon</b>	<b>Eos</b>
<i>C. vellerosus</i>											
<b>C.ve. M 1</b>	3,26	26	10,1	118	31	2	5,30	56	28	12	4
<b>C.ve. M 2</b>	3,24	35	14,7	191	42	1	5,10	52	34	10	4
<b>C.ve. M 3</b>	3,96	36	16,6	186	39	3	4,90	54	26	14	6
<b>C.ve. M 4</b>	4,62	44	15,5	178	35	0	4,50	48	32	20	0
<b>C.ve. M 5</b>	3,64	37	17,6	180	41	2	3,90	48	30	12	10
<b>C.ve. M 6</b>	4,20	38	15,8	160	39	2	4,10	43	31	18	8

**Tabla 8. VIII. c.**

Estadística descriptiva de los valores hematimétricos de *Chaetophractus vellerosus* hembras (n=6) y machos (n=6) adaptados a las condiciones de bioterio por más de seis meses.

<i>C. veller. s</i> <b>Hemogr.</b>	<b>HEMBRAS</b>					<b>MACHOS</b>				
	<b>M</b>	<b>DE</b>	<b>ESM</b>	<b>IC</b>	<b>m</b>	<b>M</b>	<b>DE</b>	<b>ESM</b>	<b>IC</b>	<b>m</b>
<b>g. r.</b>	3,80	0,49	0,20	0,51	3,73	3,82	0,54	0,22	0,57	3,80
<b>Ht</b>	35,8	1,5	0,6	1,5	35,5	36,0	5,8	2,4	6,1	36,5
<b>Hb</b>	15,83	2,39	0,98	2,51	15,35	15,05	2,62	1,07	2,75	15,65
<b>VCM</b>	135,2	34,9	14,3	36,7	132,0	168,9	27,0	11,0	28,4	179,0
<b>CHCM</b>	44,3	5,9	2,4	6,2	43,5	37,8	4,1	1,7	4,3	39,0
<b>I. R.</b>	2,7	2,0	0,9	2,2	2,5	1,7	1,0	0,4	1,1	2,0
<b>g. b.</b>	4,883	0,549	0,224	0,576	5,050	4,633	0,561	0,229	0,589	4,700
<b>Neu</b>	47,7	3,9	1,6	4,1	47,0	50,2	4,7	1,9	4,9	50,0
<b>Lin</b>	29,2	5,1	2,1	5,3	27,5	30,2	2,8	1,2	2,9	30,5
<b>Mon</b>	17,7	4,6	1,9	4,9	17,0	14,3	3,9	1,6	4,0	13,0

**Tabla 8. IX. a.**

Valores de bioquímica sanguínea de *Chaetophractus vellerosus* hembras adaptadas a las condiciones de bioterio por más de seis meses.

HEMBRAS															
Bioq.Sang.	Ur	Glu	Ca	P	FASA	GPT	GOT	Ami	Lip	Trig	Col	Fos	Prot	Alb	A/G
<i>C. vellerosus</i>															
C.ve. H 1	75	82	10,5	3,8	24	65	126	44	6,8	0,9	350	0,8	8,3	4	0,93
C.ve. H 2	81	83	9,8	2,9	40	47	69	40	7,2	0,8	319	1,3	8,2	4,3	1,1
C.ve. H 3	78	107	10,8	3,1	24	51	107	42	10	0,8	431	2,1	8,9	4,1	0,85
C.ve. H 4	87	119	11,8	3,2	26	45	83	30	7,9	1,4	276	2,5	6	2,1	0,54
C.ve. H 5	69	100	10,4	3,4	36	49	86	36	8,2	1,7	320	1,8	7,8	3,3	0,73
C.ve. H 6	71	98	9,5	3,6	38	52	82	37	8,4	1,5	331	1,1	7,9	3,5	0,8

**Tabla 8. IX. b.**

Valores de bioquímica sanguínea de machos de *Chaetophractus vellerosus* adaptadas a las condiciones de bioterio por más de seis meses.

MACHOS															
Bioq.Sang.	Ur	Glu	Ca	P	FASA	GPT	GOT	Ami	Lip	Trig	Col	Fos	Prot	Alb	A/G
<i>C. vellerosus</i>															
C.ve. M 1	62	81	9,2	2,7	40	40	83	39	8	0,8	276	0,9	8,7	4,2	0,93
C.ve. M 2	107	88	11,4	3,1	24	42	89	37	8,8	0,9	314	1,2	7,9	4,1	1,07
C.ve. M 3	81	120	9,5	2,7	26	48	81	30	9,7	1,5	284	1,3	5,6	2,8	1
C.ve. M 4	78	100	11,3	3,8	20	40	83	56	9,7	1,1	330	1,3	6	2,2	0,58
C.ve. M 5	68	110	10	3,6	28	42	78	54	10	1,3	325	1,2	6,9	2,9	0,73
C.ve. M 6	70	96	10,4	3,8	32	44	94	40	9,9	1,8	320	1,1	7,3	3,2	0,78

**Tabla 8. IX. c.**

Estadística descriptiva de los valores de bioquímica sanguínea de *Chaetophractus vellerosus* hembras (n=6) y machos (n=6) adaptados a las condiciones de bioterio por más de seis meses.

<i>C. velleros.</i> Bioq. Sang.	HEMBRAS					MACHOS				
	M	DE	ESM	IC	m	M	DE	ESM	IC	m
Ur	76,833	6,6	2,7	6,9	76,5	77,7	15,9	6,5	16,7	74,0
Glu	98,2	14,2	5,8	14,9	99,0	99,2	14,3	5,8	14,9	98,0
Ca	10,47	0,81	0,33	0,85	10,45	10,30	0,91	0,37	0,96	10,20
P	3,33	0,33	0,14	0,35	3,30	3,29	0,52	0,21	0,54	3,35
FASA	31,3	7,4	3,0	7,8	31,0	28,3	6,9	2,9	7,3	27,0
GPT	51,5	7,1	2,9	7,4	50,0	42,7	3,0	1,2	3,2	42,0
GOT	92,2	20,6	8,4	21,6	84,5	84,7	5,8	2,4	6,1	83,0
Ami	38,2	4,9	2,0	5,2	38,5	42,7	10,2	4,2	10,7	39,5
Lip	8,1	1,1	0,4	1,2	8,0	9,3	0,8	0,3	0,8	9,7
Trig	1,2	0,4	0,2	0,4	1,1	1,2	0,4	0,1	0,4	1,2
Col	337,8	51,7	21,1	54,3	325,5	308,2	22,6	9,2	23,7	317,0
Fos	1,6	0,6	0,3	0,7	1,5	1,2	0,1	0,06	0,1	1,2
Prot	7,85	0,98	0,40	1,03	8,05	7,07	1,16	0,47	1,22	7,10
Alb	3,55	0,80	0,33	0,84	3,75	3,23	0,78	0,32	0,82	3,05
A/G	0,825	0,189	0,0771	0,198	0,825	0,848	0,184	0,0752	0,193	0,855

A continuación, en la **Tabla 8. X.**, se describen los resultados obtenidos de la comparación estadística de los valores del hemograma, a partir del ANOVA de 2 Factores, para ambas especies de Armadillos.

**Tabla 8. X.**

Comparación estadística entre los valores del hemograma entre las especies *C. villosus* (machos=4; hembras=11) y *C. vellerosus* (machos=6; hembras=6), tomando en cuenta el sexo. Se muestran los valores del estadístico F del ANOVA para cada factor y la interacción. Se considera una significación estadística de  $P < 0,05$  (**significativo con negrita**).

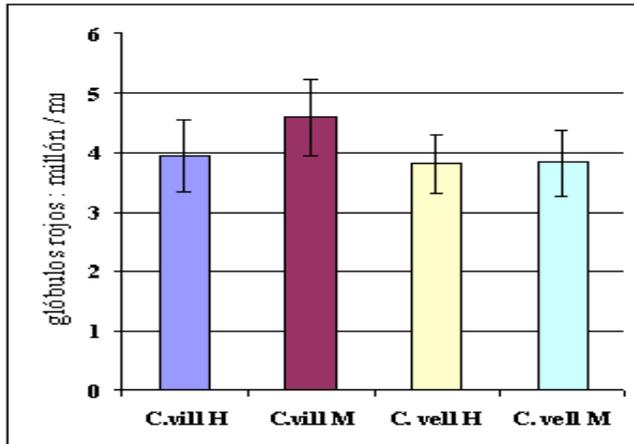
	g.r.		Ht		Hb		VCM	
	F	P	F	P	F	P	F	P
<b>Sexo (S)</b>	2,219	0,149	1,541	0,226	0,121	0,731	<b>6,090</b>	<b>0,021</b>
<b>Especie (E)</b>	<b>4,251</b>	<b>0,050</b>	3,291	0,082	1,347	0,257	<b>43,94</b>	<b>&lt;0,001</b>
<b>E x S</b>	1,959	0,174	1,313	0,263	1,388	0,250	2,355	0,137

	CHCM		I. R.		g. b.	
	F	P	F	P	F	P
<b>Sexo (S)</b>	0,316	0,579	1,341	0,258	0,240	0,628
<b>Especie (E)</b>	<b>7,635</b>	<b>0,011</b>	0,008	0,931	<b>8,807</b>	<b>0,007</b>
<b>E x S</b>	<b>6,021</b>	<b>0,021</b>	0,016	0,900	0,007	0,936

	Neu		Lin		Mon		Eos	
	F	P	F	P	F	P	F	P
<b>Sexo (S)</b>	0,149	0,703	1,545	0,225	0,742	0,397	0,04	0,844
<b>Especie (E)</b>	1,003	0,326	2,808	0,106	0,0004	0,985	<b>18,46</b>	<b>&lt;0,001</b>
<b>E x S</b>	2,592	0,120	0,524	0,476	1,548	0,225	0,004	0,951

Los datos estadísticos muestran que en algunos parámetros hay diferencias significativas entre ambas especies: glóbulos rojos (**g. r.**) (**Fig. 8.1a**), volumen corpuscular medio (**VCM**) (**Fig. 8.1b**), concentración de hemoglobina corpuscular media (**CHCM**) (**Fig. 8.1c**), glóbulos blancos (**g. b.**) (**Fig. 8.1d**) y eosinófilos (**Eos**) (**Fig. 8.1e**). En el caso del **VCM**, también hay diferencias significativas entre sexos (**Fig. 8.1b**).

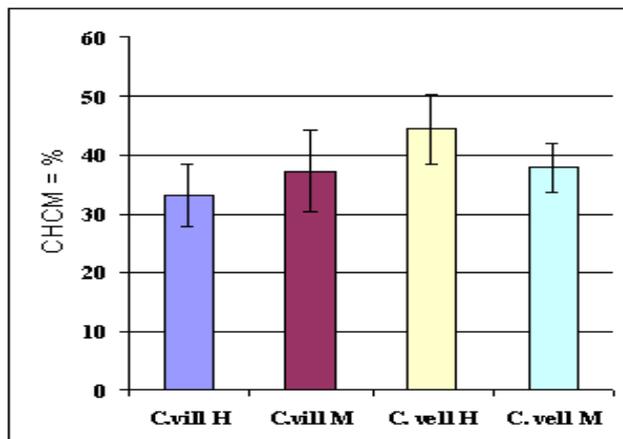
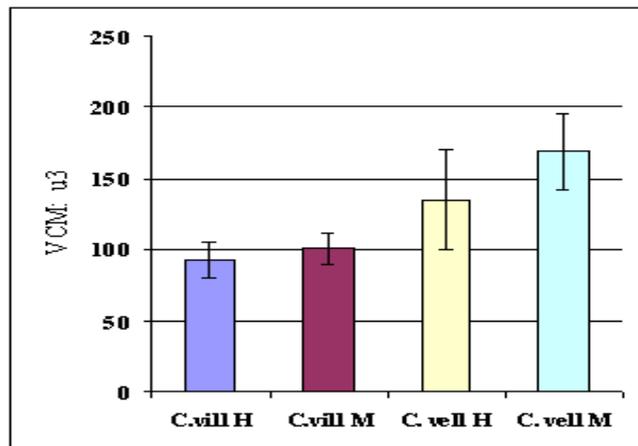
En el caso de la concentración de hemoglobina corpuscular media (**CHCM**) las comparaciones múltiples muestran que hay diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre las hembras de ambas especies, pero tanto los machos entre sí, como el sexo dentro de cada especie no muestran diferencias significativas ( $P > 0,05$ ) (**Fig. 8.1c**).



**Figuras 8. 1. a.**

Histograma comparativo entre los valores de glóbulos rojos (**g.r.**) obtenidos para *C. villosus* machos (C.vill M; n=11) y hembras (C.vill H; n=6) y *C. vellerosus*, machos (C.vell M; n=6) y hembras (C.vell H; n=6) donde se puede visualizar la diferencia significativa entre especies.

**Figuras 8. 1. b.**  
Histograma comparativo entre los valores del Volumen Corpuscular Medio (**VCM**) obtenidos para *C. villosus* machos (C.vill M; n=11) y hembras (C.vill H; n=6) y *C. vellerosus*, machos (C.vell M; n=6) y hembras (C.vell H; n=6) donde se puede visualizar la diferencia significativa entre sexos y entre especies.

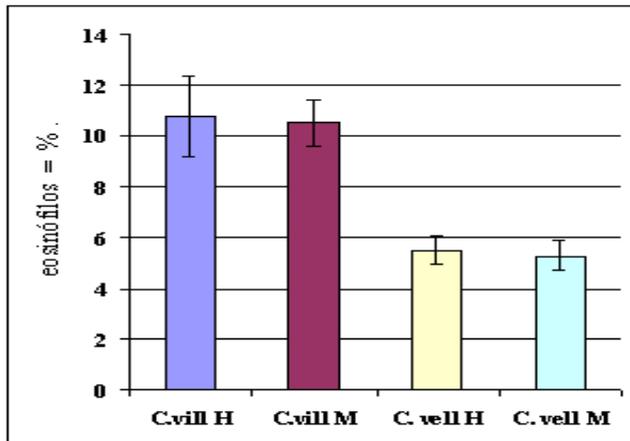
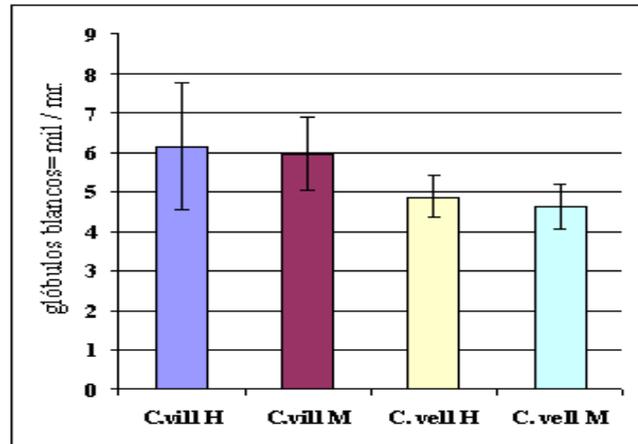


**Figuras 8. 1. c.**

Histograma comparativo entre los valores de la Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media (**CHCM**) obtenidos para *C. villosus* machos (C.vill M; n=11) y hembras (C.vill H; n=6) y *C. vellerosus*, machos (C.vell M; n=6) y hembras (C.vell H; n=6) donde se puede visualizar la diferencia significativa entre especies y entre sexos y especies.

**Figuras 8. 1. d.**

Histograma comparativo entre los valores de glóbulos blancos (**g.b.**) obtenidos para *C. villosus* machos (C.vill M; n=11) y hembras (C.vill H; n=6) y *C. vellerosus*, machos (C.vell M; n=6) y hembras (C.vell H; n=6) donde se puede visualizar la diferencia significativa entre especies.



**Figuras 8. 1. e.**

Histograma comparativo entre los valores de eosinófilos (**Eos**) obtenidos para *C. villosus* machos (C.vill M; n=11) y hembras (C.vill H; n=6) y *C. vellerosus*, machos (C.vell M; n=6) y hembras (C.vell H; n=6) donde se puede visualizar la diferencia significativa entre especies.

A continuación, en la **Tabla 8. XI.**, se describen los resultados obtenidos de la comparación estadística de los valores de bioquímica sanguínea, a partir del ANOVA de 2 Factores, para ambas especies de armadillos.

**Tabla 8.XI.**

Comparación estadística entre los valores de bioquímica sanguínea entre las especies *C. villosus* (machos=4; hembras =11) y *C. vellerosus* (machos=6; hembras=6), tomando en cuenta el sexo. Se muestran los valores del estadístico F del ANOVA para cada factor y la interacción. Se considera una significación estadística de  $P < 0,05$  (**significativo con negrita**).

	Ur		Glu		Ca		P		FASA	
	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
Sexo (S)	2,415	0,133	0,407	0,530	0,483	0,493	0,423	0,521	0,005	0,946
Especie (E)	0,782	0,385	3,438	0,076	0,293	0,593	<b>5,062</b>	<b>0,034</b>	<b>10,25</b>	<b>0,004</b>
E x S	1,154	0,293	0,667	0,422	0,117	0,735	0,178	0,676	1,441	0,241

	GPT		GOT		Ami		Lip		Trig	
	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
Sexo (S)	<b>6,892</b>	<b>0,015</b>	0,128	0,724	0,024	0,879	0,317	0,578	1,398	0,248
Especie (E)	<b>439,7</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>185,2</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>3670</b>	<b>&lt;0,001</b>	0,290	0,595	0,467	0,501
E x S	<b>5,647</b>	<b>0,025</b>	1,786	0,193	0,630	0,435	0,655	0,426	1,036	0,319

	Col		Fos		Prot		Alb		A / G	
	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
Sexo (S)	<b>8,529</b>	<b>0,007</b>	1,306	0,264	1,579	0,220	0,473	0,498	0,027	0,870
Especie (E)	0,828	0,371	<b>50,24</b>	<b>&lt;0,001</b>	0,065	0,801	0,097	0,758	0,331	0,570
E x S	1,917	0,178	0,251	0,621	1,071	0,311	0,335	0,568	0,001	0,982

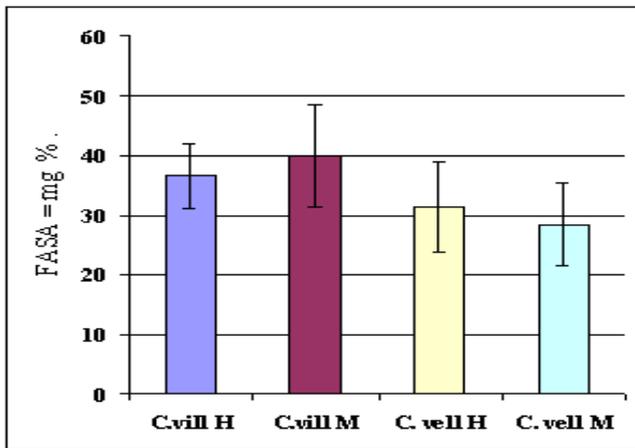
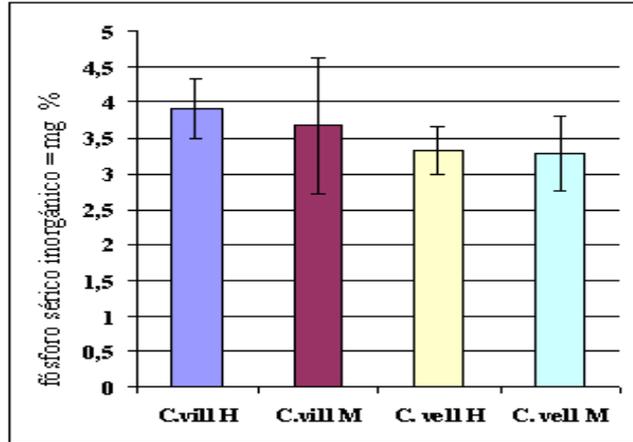
Los datos estadísticos muestran que en algunos parámetros hay diferencias significativas entre ambas especies: fósforo (P) (Fig. 8. 2. a.), fosfatasa alcalina sérica (FASA) (Fig. 8. 2. b.), glutámico pirúvico transaminasa (GPT) (Fig. 8. 2. c.), glutámico oxalacético transaminasa (GOT) (Fig. 8. 2. d.), amilasa (Ami) (Fig. 8. 2. e.) y fosfolípidos (Fos) (Fig. 8. 2. f.).

En el caso de la glutámico pirúvico transaminasa (GPT) las comparaciones múltiples muestran que para cada sexo hay diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre ambas especies, pero por sexo hay solamente en la especie *C. vellerosus* ( $P < 0,05$ ) (Fig. 8. 2. c.).

En el caso del colesterol (Col) (Fig. 8. 2. g.) las hembras de ambas especies muestran niveles mayores de colesterol en un porcentaje del 16,5 %.

**Figuras 8. 2. a.**

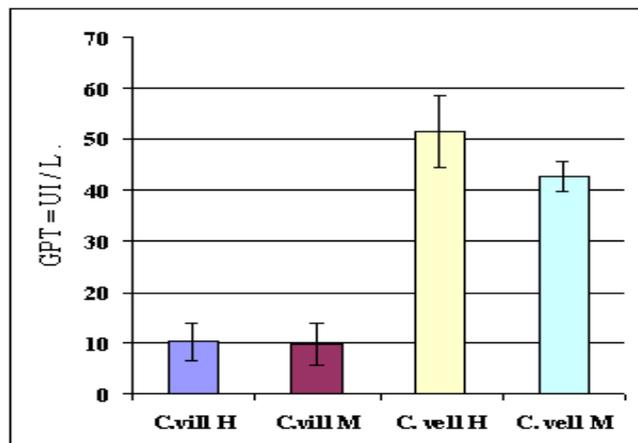
Histograma comparativo entre los valores de fósforo sérico inorgánico obtenidos (P) para *C. villosus* machos (C.vill M; n=11) y hembras (C.vill H; n=6) y *C. vellerosus*, machos (C.vell M; n=6) y hembras (C.vell H; n=6) donde se puede visualizar la diferencia significativa entre especies.

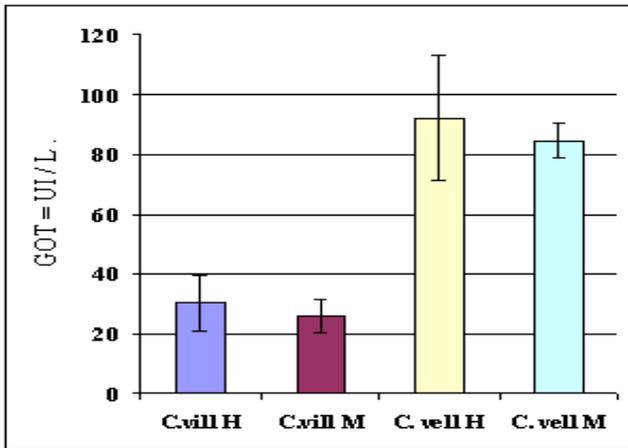


**Figuras 8. 2. b.** Histograma comparativo entre los valores de fosfatasa alcalina sérica (FASA) obtenidos para *C. villosus* machos (C.vill M; n=11) y hembras (C.vill H; n=6) y *C. vellerosus*, machos (C.vell M; n=6) y hembras (C.vell H; n=6) donde se puede visualizar la diferencia significativa entre especies.

**Figuras 8. 2. c.**

Histograma comparativo entre los valores de la enzima glutámico pirúvico transaminasa (GPT) obtenidos para *C. villosus* machos (C.vill M; n=11) y hembras (C.vill H; n=6) y *C. vellerosus*, machos (C.vell M; n=6) y hembras (C.vell H; n=6) donde se puede visualizar la diferencia significativa entre sexos, entre especies y entre sexo y especies.



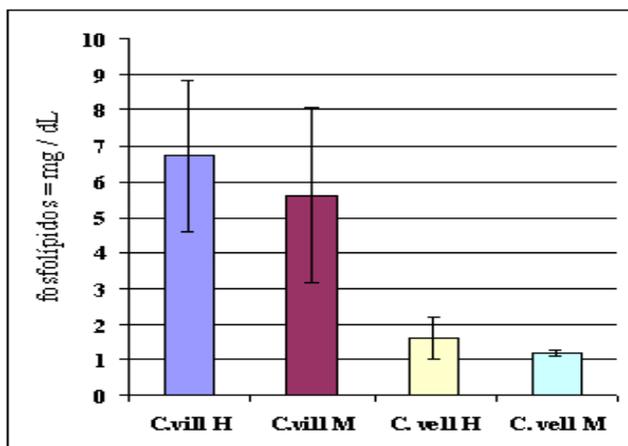
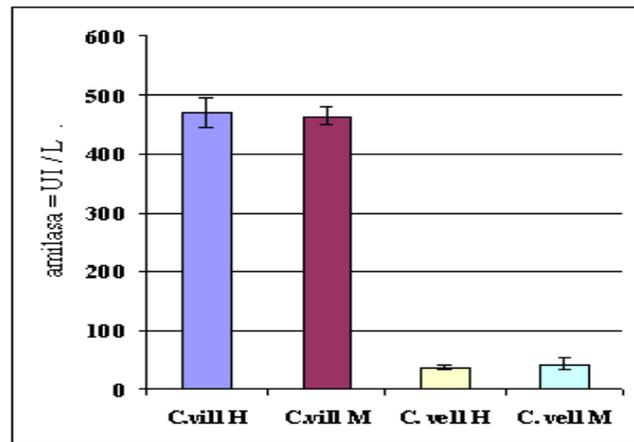


**Figuras 8. 2. d.**

Histograma comparativo entre los valores de la enzima glutámico oxalacético transaminasa (**GOT**) obtenidos para *C. villosus* machos (C.vill M; n=11) y hembras (C.vill H; n=6) y *C. vellerosus*, machos (C.vell M; n=6) y hembras (C.vell H; n=6) donde se puede visualizar la diferencia significativa entre especies.

**Figuras 8. 2. e.**

Histograma comparativo entre los valores de la amilasa (**Ami**) sérica obtenidos para *C. villosus* machos (C.vill M; n=11) y hembras (C.vill H; n=6) y *C. vellerosus*, machos (C.vell M; n=6) y hembras (C.vell H; n=6) donde se puede visualizar la diferencia significativa entre especies.

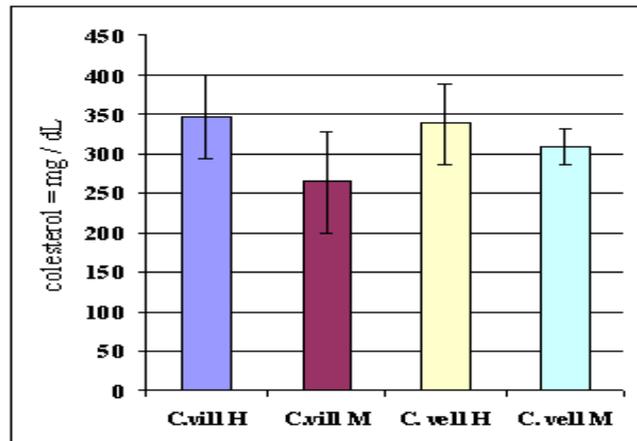


**Figuras 8. 2. f.**

Histograma comparativo entre los valores de la fosfolípidos (**Fos**) obtenidos para *C. villosus* machos (C.vill M; n=11) y hembras (C.vill H; n=6) y *C. vellerosus*, machos (C.vell M; n=6) y hembras (C.vell H; n=6) donde se puede visualizar la diferencia significativa entre especies.

**Figuras 8. 2. g.**

Histograma comparativo entre los valores de la colesterol sérico (Col) obtenidos para *C. villosus* machos (C.vill M; n=11) y hembras (C.vill H; n=6) y *C. vellerosus*, machos (C.vell M; n=6) y hembras (C.vell H; n=6) donde se puede visualizar la diferencia significativa entre sexos.



**8. 2. 2. Consideraciones finales de esta sección**

En el presente trabajo se ha reiterado la importancia de los Armadillos, en particular el género *Chaetophractus*, como Animales de Laboratorio No Tradicionales.

Se ha destacado también la necesidad de obtener valores clínico-fisiológicos de referencia para su crianza en cautividad.

La asociación anestésica utilizada (tranquilizante más anestésico disociativo) resultó adecuada, tanto por su practicidad, como por su efectividad y seguridad. El período de inducción fue de cinco (5) minutos y la duración de la anestesia apta para el trabajo fue de veinticinco (25) minutos de promedio [ $\pm$  cinco (5) minutos]. La relajación muscular, la sedación y la analgesia fueron buenas. La recuperación se produjo a los cuarenta (40) minutos [ $\pm$  diez (10) minutos], suficiente para la maniobra de extracción. La relajación muscular y sedación fueron muy buenas, lo mismo que la analgesia.

La metodología de extracción de las muestras sanguíneas suele ser un tema de discusión acerca de la seguridad de la misma. De los 29 ejemplares de Armadillos muestreados para este trabajo, sólo uno presentó complicaciones luego del procedimiento experimental.

Un ejemplar de *C. vellerosus* no respondió adecuadamente a la sedación y analgesia y se movió durante la extracción, lo que provocó una injuria no deseada en el trayecto de la punción. Presentó posteriormente una disnea marcada. Se lo aisló en una sala de cuarentena y fue medicado con corticoides y antibióticos de amplio espectro en forma inyectable intramuscular, cada 48 horas, durante una semana. Ambos fármacos utilizados

fueron de acción prolongada. Al cabo de seis días no registró signos externos de alteración en la función cardio-respiratoria y fue reintegrado a la Colonia.

Escobar Gutiérrez y Amezcua de Bernés (1981) no especifican el calibre de las agujas utilizadas. Destacan, además, la linfocitosis relativa en cautiverio y la eosinofilia permanente atribuible a parasitosis, para el género *Dasybus*.

Además de la importancia de los datos como elementos de referencia para la cría en cautividad, Casanave y Polini (1999) establecen algunas comparaciones para destacar. La **Población II** estaba compuesta por animales más jóvenes y de menor peso que la **Población I**. Esta última presentó valores de recuento de hematíes más alto que el primero, sin embargo los índices hematimétricos no mostraron diferencia significativa entre poblaciones. El total de leucocitos y sus porcentajes celulares fueron similares en ambas poblaciones excepto el los eosinófilos.

En lo que respecta a las comparaciones con los *Dasybus* norteamericano y sudamericano, los antedichos autores establecen que los valores de hematíes, hematocrito y hemoglobina son menores que los hallados para *D. hybridus* por Cuba-Caparó (1976) y para *D. novemcinctus* por D'Addamio y col. (1978); pero resultaron similares a los obtenidos por Lewis y Doyle (1964) para *D. novemcinctus*. El número de leucocitos fue similar al de *D. hybridus* reportado por Cuba-Caparó (1976), pero más bajo que en *D. novemcinctus* según D'Addamio y col. (1978). Los valores de eosinófilos resultaron variables en distintas determinaciones y fueron atribuidos a la presencia de parásitos intestinales. El método de obtención de muestras sanguíneas por parte de Casanave y Polini (1999) fue por punción cardíaca, bajo medicación con Acepromacina y Ketamina a dosis de 0,3 mg/kg y 30 mg/kg respectivamente; sin especificar vía de administración ni efectos colaterales.

Casi todos los autores citados anteriormente utilizaron la punción cardíaca como método de extracción, aunque no siempre aclararon si hubo consecuencias secundarias indeseables.

Para efectuar la punción cardíaca, no todos los autores han aclarado si utilizan o no sedación y analgesia previa y en tal caso que fármacos utilizan.

La técnica utilizada por Luaces y col. (2005) fue probada por nosotros. Si bien con entrenamiento pueden abordarse adecuadamente los vasos caudales, en todos los casos se produjo gran hemólisis de la muestra, probablemente atribuible a la turbulencia con que la sangre penetra en la jeringa en el momento de la succión. De este modo la muestra queda inutilizada para las evaluaciones séricas y hematimétricas. Probablemente a los autores no

les resultó perjudicial esta circunstancia debido a que ellos sólo utilizaron los leucocitos para estudios genético, no interesando el resto de la muestra. Cabe aclarar que los glóbulos blancos no sufren alteraciones con esta metodología.

Hemos utilizado una de las técnicas propuesta por Escobar Gutiérrez y Amezcua de Bernés (1981) para la toma de muestra: vena safena del miembro posterior. Inclusive hemos intentado con la vena cefálica antebraquial de los miembros anteriores. Nuestros resultados no fueron alentadores. Debido la gran adiposidad del tejido celular subcutáneo, resulta difícil la visualización y palpación de las venas a punzar, a pesar de la intensa ingurgitación efectuada.

Con respecto a la medicación que estos últimos autores proponen juzgamos que resulta apropiado sumar al anestésico disociativo Ketamina un tranquilizante que produzca una relajación muscular adecuada y al mismo tiempo contrarreste la indeseable inducción que generalmente produce la Ketamina al usarse sola.

Hemos coincidido con Casanave y Polini (1999) en la elección de las drogas utilizadas para la sedación y analgesia previa a la toma de muestra, aunque utilizamos una dosis levemente superior del tranquilizante.

Las diferencias significativas encontradas entre especies, para algunos parámetros (**g. r.**, **VCM**, **CHCM**, **g. b.**, **Eos**, **P**, **FASA**, **GPT**, **GOT**, **Ami** y **Fos**), merece un estudio más profundo y con un número muestral más grande para establecer que dichas diferencias permanezcan. De todos modos, se podría asumir que son diferencias idiosincrásicas a cada especie.

Llama la atención que la diferencia existente en los valores de glóbulos rojos en *C. villosus* no se refleje en el valor de hematocrito. Esto se debe, aparentemente, a los menores valores del volumen corpuscular medio que compensan el porcentaje relativo de la compactación globular.

La diferencia existente en la **CHCM** entre las hembras de cada especie está indicando una diferencia en la cantidad de hemoglobina contenida en 100 mL de hematíes. Este parámetro, junto a la **HCM** sirve para clasificar distintos tipos de anemias referidas a la cantidad presente de **Fe** en el eritrocito. La diferencia podría ser atribuida a una característica idiosincrásica o a diferentes estrategias por especie para recomponer la homeostasis sanguínea.

La diferencia en el **VCM** entre sexos podría ser atribuida también a una respuesta compensatoria a una anemia, en este caso referida al tamaño globular y no a la cantidad de **Fe** en el eritrocito.

El colesterol elevado en ambos grupos de hembras con respecto a los machos de su especie, podría relacionarse con el estado cíclico hormonal de ellas. Es sabido que el colesterol es precursor de hormonas esteroideas como lo son las reproductivas. Sería interesante establecer si estos valores de colesterol sérico tiene una periodicidad cíclica y de ser así, si presenta alguna correlación con los ciclos estrales.

Encontramos inadecuadas las comparaciones que algunos autores (Escobar Gutiérrez y Amezcua de Bernés, 1981) realizan con los valores en el humano, no sólo existe una amplia brecha filogenética sino también una enorme diferencia en la estrategia alimenticias entre ambas especies.

Son más adecuadas las comparaciones entre los valores obtenidos para *Chaetophractus* con respecto a *Dasypus* dado que, si bien son géneros diferentes, pertenecen a una misma familia. Sería motivo de un estudio mas profundo, establecer en cuanto afectan las diferentes latitudes hemisféricas en que habitan los distintos grupos y las desiguales estrategias alimentarias de los mismos.

Acerca de la toma de muestras, deseo realizar una breve referencia metodológica. Junto al Dr. Hernán Aldana Marcos, en oportunidad de realizar parte sus investigaciones sobre Glándula de Harder y Melatonina en *C. villosus*, se nos presentó la dificultad de tomar muestras de sangre seriadas, en el mismo individuo, cada dos o cuatro horas (Aldana Marcos y col., 1995a y 1995b; Aldana Marcos y col., 1996a y 1996b). La técnica de punción cardíaca era inviable por la constante sedación y la reiterada injuria invasiva efectuada sobre los ejemplares a estudiar. Inclusive, podría sospecharse que la insistente administración de fármacos podría modificar los valores muestrales obtenidos, con la consecuente falta de confiabilidad de los datos. Como las cantidades muestrales eran muy pequeñas, desarrollamos la técnica de efectuar pequeños cortes de uñas con un cortaúñas para caninos. Se fueron despuntando las mismas hasta llegar a la matriz ungueal y obtener unas gotas de sangre, hecho esto en forma secuencial en diferentes dedos según el horario de muestreo establecido en el diseño experimental. La metodología puede parecer excesivamente cruenta y generar rechazo, pero la realidad demostró que con muy buena desinfección y suma delicadeza en los procedimientos no se generaron reacciones indeseables ni consecuencias adversas en los ejemplares. Para completar las buenas prácticas clínicas en esta metodología puede topicarse la zona de injuriada con hemostáticos en polvo de uso corriente en el mercado veterinario (a base de alumbre, óxido férrico y silicatos). Se propone esta técnica para la toma de pequeñas muestras sanguíneas.

A modo de resumen y como una forma de visualizar en forma rápida la enorme cantidad de datos que se han ido volcando en esta sección de la Tesis acerca de los valores sanguíneos de los Armadillos, se elaboró las **Tablas 8. XII.** donde se comparan los datos obtenidos por los autores de referencia con respecto a los del autor de esta Tesis. En dicha tabla se pueden observar los promedios (**M**) y los desvíos estándar (**DE**) de los valores de hemograma y de bioquímica sanguínea de las especies más difundidas en la investigación biomédica, discriminados por sexo y condición de cautividad.

Merece destacarse que la diversidad de datos hemáticos aportados en la presente Tesis resulta marcadamente completa en comparación con las referencias recopiladas de otros autores, por lo que resulta una adecuada base para iniciar el desarrollo de un **perfil sanguíneo de los animales en estudio**, tanto en lo referente a su bioquímica como a sus elementos celulares.

Tabla 8. XII.

Estadística descriptiva tomando los promedios (M) los desvíos estándar (DE) de los datos obtenido por los autores de referencia y el autor de esta Tesis de los valores de hemograma y de bioquímica sanguínea de *D. hybridus*, *D. novemcinctus*, *C. villosus* y *C. vellerosus*; discriminados por sexo y condición de cautividad.

Autores	Especie	Condición	Cuba-Caparro, 1977		Purtillo y col., 1975.		Amezcuca y col., 1978.	Casanave y Polini (1999).		Iodice, 2009.					
			<i>D. hybridus</i>		<i>D. novemcinctus</i>			<i>C. villosus</i>		<i>C. villosus</i>		<i>C. villosus</i>		<i>C. vellerosus</i>	
			Cautivo	Silvestre	Silvestre	Cautivo		Silvestre (Bs. As.)	Silvestre (La Pampa)	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Hemograma	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M		
Eritrocitos (millones/mm <sup>3</sup> )	5,98	7,47	-	-	6,08	4,06 ± 0,55	3,59 ± 0,53	3,947 ± 0,600	4,590 ± 0,646	3,80 ± 0,49	3,82 ± 0,54				
Ht (mL/100 mL)	40,07	49,30	-	-	39,6	36,3 ± 3,9	33,1 ± 4,5	37,0 ± 4,7	41,2 ± 4,7	35,8 ± 1,5	36,0 ± 5,8				
Hb (g/dL)	16,49	15,00	-	-	11,8	11,4 ± 1,5	10,5 ± 1,6	13,63 ± 2,85	15,07 ± 1,12	15,83 ± 2,39	15,05 ± 2,62				
VCM	67,67	66,00	-	-	63,8	90,4 ± 9,9	92,6 ± 3,3	92,3 ± 12,5	100,7 ± 11,3	135,2 ± 34,9	168,9 ± 27,0				
CHCM	41,43	30,60	-	-	29,0	31,5 ± 2,5	31,7 ± 2,1	33,1 ± 5,3	37,2 ± 6,9	44,3 ± 5,9	37,8 ± 4,1				
IR	-	-	-	-	-	-	-	2,6 ± 2,2	1,8 ± 2,4	2,7 ± 2,0	1,7 ± 1,0				
Leucócitos (miles/mm <sup>3</sup> )	9,25	8,94	8,84	7,53	7,53	10,13 ± 5,1	9,38 ± 5,47	6,145 ± 1,580	5,967 ± 0,929	4,883 ± 0,549	4,633 ± 0,561				
Neutrófilos (%)	58	57	33	52	52	52,6 ± 12	50,3 ± 14	48,9 ± 6,4	44,8 ± 4,5	47,7 ± 3,9	50,2 ± 4,7				
Linfocitos (%)	33,25	25	52	30	30	34,3 ± 11,5	36,5 ± 13,7	24,5 ± 4,8	28,3 ± 6,7	29,2 ± 5,1	30,2 ± 2,8				
Monocitos (%)	4,5	12	0,7	15	15	6,8 ± 2,8	5,1 ± 2,7	15,7 ± 3,1	16,3 ± 5,4	17,7 ± 4,6	14,3 ± 3,9				
Eosinófilos (%)	3	5	4	4	4	3,9 ± 2,8	6,9 ± 5,6	10,8 ± 2,8	10,5 ± 1,5	5,5 ± 4,5	5,3 ± 3,5				
Úr	-	-	-	-	-	-	-	74,72 ± 8,15	66,13 ± 14,86	76,83 ± 6,6	77,7 ± 15,9				
Glu	-	-	-	-	-	-	-	92,36 ± 10,6	84,23 ± 20,62	98,2 ± 14,2	99,2 ± 14,3				
Ca	-	-	-	-	-	-	-	10,37 ± 1,42	9,88 ± 1,42	10,47 ± 0,81	10,30 ± 0,91				
P	-	-	-	-	-	-	-	3,92 ± 0,41	3,68 ± 0,95	3,33 ± 0,33	3,29 ± 0,52				
FASA	-	-	-	-	-	-	-	36,6 ± 5,5	40,0 ± 8,6	31,3 ± 7,4	28,3 ± 6,9				
GPT	-	-	-	-	-	-	-	10,3 ± 3,7	9,8 ± 4,2	51,5 ± 7,1	42,7 ± 3,0				
GOT	-	-	-	-	-	-	-	26,0 ± 9,3	30,3 ± 5,5	92,2 ± 20,6	84,7 ± 5,8				
Ami	-	-	-	-	-	-	-	470,0 ± 25,7	463,3 ± 15,1	38,2 ± 4,9	42,7 ± 10,2				
Líp	-	-	-	-	-	-	-	9,33 ± 3,57	9,10 ± 1,18	8,1 ± 1,1	9,3 ± 0,8				
Trig	-	-	-	-	-	-	-	1,08 ± 0,88	1,75 ± 1,12	1,2 ± 0,4	1,2 ± 0,4				
Col	-	-	-	-	-	-	-	347,0 ± 52,1	263,8 ± 63,4	337,8 ± 51,7	308,2 ± 22,6				
Fos	-	-	-	-	-	-	-	6,73 ± 2,12	5,62 ± 2,46	1,6 ± 0,6	1,2 ± 0,1				
Prot	-	-	-	7,56	-	-	-	7,41 ± 0,70	7,33 ± 0,81	7,85 ± 0,98	7,07 ± 1,16				
Alb	-	-	-	-	-	-	-	3,33 ± 0,55	3,30 ± 0,50	3,55 ± 0,80	3,23 ± 0,78				
A/G	-	-	-	-	-	-	-	0,899 ± 0,362	0,917 ± 0,432	0,825 ± 0,189	0,848 ± 0,184				

### **8. 3. ZARIGÜEYAS**

---

Desde hace tiempo se ha propuesto a algunos marsupiales americanos como Animales de Laboratorio en las más diversas áreas de la investigación biomédica, tanto básicas como aplicadas (Krupp y Quillin, 1964; Jurgelski, 1979; Iodice, 1988).

Muchos investigadores y han adoptado a este grupo animal como modelo experimental de elección. Sin embargo, han tropezado en repetidas oportunidades con el inconveniente surgido de la escasa información y experiencia acerca de las pautas de mantenimiento en cautividad bajo condiciones de bioterio. La mayoría de los datos al respecto se refieren al oposum norteamericano (*D. virginiana*) (Krupp y Quillin, 1964; Jurgelski Jr, 1974, 1979; Jurgelski Jr, y col. II, III 1974), y al oposum gris de cola corta (*Monodelphis doméstica*) (VandeBerg, 1983 y 1999; Chiscano y col., 1993; Robinson y Vandeberg, 1994; VandeBerg y Robinson, 1997).

Los marsupiales americanos suman 15 géneros con más de 70 especies diferentes. Sud América y en especial la Argentina, presentan un excelente muestrario de esta diversidad. Un resumen de estos géneros y especies y sus denominaciones regionales vulgares puede consultarse en Iodice (1988).

En nuestro país existen entre once y doce géneros pertenecientes a esta familia según Mares y Braun (2000) o Massoia y col. (2000). Los géneros a los que se hará referencia en esta tesis son: *Didelphis* y *Lutreolina*.

Nuestro grupo de trabajo está realizando investigaciones sobre este grupo de mamíferos desde hace mucho tiempo (Affanni y Morita, 1966; Affanni, 1972; Scaravilli y col., 1974; Iodice y col., 1985). Ha tomado como modelo dos especies autóctonas de marsupiales, *D. albiventris* y *L. crassicaudata*, llamadas vulgarmente zarigüeya overa, zarigüeya picaza o mbicuré la primera y zarigüeya colorada o coligrueso la segunda. Las áreas de investigación que se han abordado son la neurobiología básica (Affanni y Morita, 1966; Affanni, 1972; Scaravilli y col. 1974) y el mantenimiento reproducción y crianza en condiciones de bioterio (Petersen y col., 1984; Iodice y col. 1985; Iodice y col. 1986 a; Iodice y Affanni, 1988 a; Iodice y col., 2007).

Es llamativa la escasa o nula atención que los investigadores le han dado a estos dos marsupiales, si bien comparten gran parte de las características y utilidades que han hecho de estos mamíferos no placentarios excelentes modelos animales para la investigación.

Como consecuencia de todo lo expuesto considero que la crianza en forma intensiva de estas especies en condiciones de bioterio hace que el aspecto sanitario de los mismos tenga fundamental importancia. Por lo tanto, la obtención de valores clínico-fisiológicos de referencia se hace imprescindible para un adecuado control sanitario de los ejemplares.

No hemos encontrado reportes de datos referidos a valores hematológicos en *L. crassicaudata*. Con respecto a *D. albiventris* los informes son escasos y aislados, referidos mayormente a hallazgos en muestreo de campo.

Por tal motivo nos propusimos obtener valores sanguíneos de referencia para estas dos especies de marsupiales: *D. albiventris* y *L. crassicaudata*.

### **8. 3. 1. Hemograma y valores bioquímicos sanguíneos de *Didelphis albiventris* (zarigüeya overa) y *Lutreolina crassicaudata* (zarigüeya colorada) mantenidas bajo condiciones de bioterio<sup>13</sup>.**

Si bien la información acerca de valores sanguíneos en **zarigüeyas** es más bien escasa, existen reportes referidos a la especie norteamericana, *D. virginiana* (Timmons y Marques, 1969; Cutts y Krause, 1980). Los ejemplares fueron capturados en estado silvestre y fueron mantenidos en cautividad por poco tiempo. Timmons y Marques (1969) obtuvo las muestras de la venas de la cola sin anestésiar (**Tablas 8. XIV. a. y 8. XIV. b.**). Cutts y Krause (1980) las tomaron de los vasos del cuello, sin aclarar si los ejemplares fueron o no anestesiados. Estos autores efectuaron una comparación de los valores de leucocitos a lo largo del desarrollo madurativo del opossum norteamericano (**Tabla 8. XV.**).

También se pueden encontrar algunos datos acerca de especies sudamericanas como *D. albiventris* (Corujeira y col., 1986; García y col., 1998 a y b; Casagrande y col., 2009), *D. aurita* (Casagrande y col., 2009) y *L. crassicaudata* (Corujeira y col., 1986).

Corujeira y col. (1986) extrajo las muestras por punción cardíaca y bajo anestesia utilizando Acepromacina y Ketamina a dosis de 1 mg/kg y 30 mg/kg respectivamente por vía intramuscular mezclados en la misma jeringa. García y col. (1998 a y b) tomó las suyas como paso previo a un procedimiento quirúrgico experimental, estando los animales

---

<sup>13</sup> Parte de la información presentada a continuación fue comunicada en forma de póster como: "Hemogram and blood values of *Didelphis albiventris* and *Lutreolina crassicaudata* reared under laboratory conditions". Corujeira y col. 1986. Regional / International Meeting on Laboratory Animals. ICLAS-CEMIB-FESBE., Aguas de Lindoia, Brasil.

bajo anestesia general con el siguiente protocolo: Atropina, 0,1 mg/kg, IM; Diazepán, 0,5 mg/kg, IM; Xilacina, 3 mg/kg, IM; Ketamina, 60 mg/kg, IM (Tabla 8. XVI). Los ejemplares utilizados por ambos grupos de investigadores pertenecían a la Colonia de Armadillos y Marsupiales del Instituto de Neurociencia, todos mantenidos en condiciones de bioterio por largo tiempo.

**Tabla 8. XIV. a.**

Valores hematológicos y química sanguínea del opossum *D. virginiana* (Timmons y Marques, 1969).

Blood determinations	Mean	Standard deviation	95% confidence level	Rang.
White blood cells 10 <sup>3</sup> /cumm	18,9	4,50	16,6 - 21,3	14,0 - 22,9
Neutrophils %	34,4	12,25	28,0 - 40,8	12 - 67
Lymphocytes %	53,9	19,10	44,0 - 63,9	13 - 67,5
Monocytes %	0,6	0,57	0,34 - 0,94	0 - 2
Eosinophils %	7,3	4,05	5,2 - 9,4	2 - 15
Basophils %	0,43	0,47	0,18 - 0,68	0 - 2
Red Blood cells 10 <sup>6</sup> /cumm	4,27	0,52	4,0 - 4,54	3,4 - 5,5
Hematocrit %	35,21	5,66	32,3 - 38,2	28 - 47
Hemoglobin g/100 mL	11,95	2,12	10,84 - 13,06	8,3 - 16,2

Serum determinations	Mean	Standard deviation	95% confidence level	Rang.
Cholesterol mg/100 mL	129,5	19,1	119,5 - 139,5	80 - 151
Calcium mg/100 mL	10,67	0,45	10,4 - 10,9	9,6 - 11,2
Inorganic phosphorous mg/100 mL	6,8	0,98	6,3 - 7,3	4,6 - 8,2
Total bilirubin mg/100 mL	0,48	0,16	0,4 - 0,6	0,3 - 0,8
Albumin g/100 mL	0,64	0,19	0,5 - 0,7	0,2 - 0,9
Total protein g/100 mL	6,9	0,79	6,5 - 7,3	5,6 - 8,0
Uric Acid mg/100 mL	1,4	0,39	1,1 - 1,6	0,9 - 2,2
Blood urea nitrogen mg/100 mL	33,5	11,6	27,4 - 39,6	23 - 60
Glucose mg/100 mL	112,1	11,3	106,2 - 117,9	99 - 145
lactic dehydrogenase Wroblewski Units	122,4	42,91	99,9 - 144,9	60 - 185
Alkaline phosphatase King-Armstrong Units	21,2	7,39	17,3 - 25,1	13 - 35
SGOT Karmen Units	>250	-	-	>250
Sodium mEq/L	146,3	5,6	143,3 - 149,2	143,0 - 155,0
Potassium mEq/L	5,2	0,64	4,8 - 5,5	4,1 - 6,1

**Tabla 8. XIV. b.**

Una comparación de valores medios de hemograma del opossum *D. virginiana* obtenido por varios autores (Tomado de Timmons y Marques, 1969).

	Timmons et al.	Mays et al.	Youatt et al.
Numbers of animals	14	25	13
WBC 10 <sup>3</sup> /cu mm	18,9	22,6	19,7
RBC 10 <sup>6</sup> /cu mm	4,3	4,8	5,16
Neutrophils %	34,4	42,4	34,2
Eosinophils %	7,3	5,7	7,3
Basophils %	0,4	0,4	0
Lymphocytes %	53,9	50	54,6
Monocytes %	0,6	0,9	2,3
Hematocrit %	35,2	37,1	38
Hemoglobin g/100 mL	11,95	12,8	11,1

WBC: leucocitos  
RBC: eritrocitos

**Tabla 8. XV.**

Conteo de leucocitos total y diferencial en el desarrollo del opossum norteamericano *D. virginiana* (Cutts y Krause, 1980).

Body length (Cm)	Age (days)	Total WBC (±s.d.)	% of cell type (±s.d.)				
			Neutrophils*	Eosinophils	Basophils	Monocytes	Lymphocytes
1.4	Newborn	552 ± 84	89.1 ± 2.8	0.65 ± 0.4	1.2 ± 0.3	4.9 ± 0.8	3.9 ± 1.5
2.0	4.5	12036 ± 1142	75.1 ± 5.3	10.4 ± 3.6	7.6 ± 3.4	4.1 ± 1.7	2.4 ± 0.9
2.5	8.0	18539 ± 1514	40.8 ± 4.7	35.1 ± 5.7	16.8 ± 4.1	3.4 ± 1.2	3.7 ± 1.4
3.0	11.5	22750 ± 613	39.6 ± 5.8	38.8 ± 6.9	9.3 ± 7.9	3.9 ± 1.8	7.6 ± 1.8
3.5	15.0	24191 ± 1676	21.1 ± 3.9	45.8 ± 4.5	11.4 ± 1.1	6.9 ± 0.6	14.9 ± 3.3
4.5	22.0	18481 ± 387	23.8 ± 5.2	25.3 ± 2.5	3.8 ± 0.9	4.3 ± 0.9	42.7 ± 6.7
5.5	29.0	12383 ± 1056	18.4 ± 4.1	19.6 ± 1.8	3.9 ± 0.7	4.3 ± 1.0	53.7 ± 4.4
7.5	43.0	10749 ± 363	12.6 ± 1.7	20.9 ± 5.3	4.4 ± 1.7	4.2 ± 1.1	57.8 ± 6.4
8.0	46.5	8818 ± 275	12.3 ± 2.2	16.8 ± 3.6	5.3 ± 1.4	4.9 ± 0.3	60.7 ± 4.3
10.0	60.5	8684 ± 200	15.7 ± 4.1	14.8 ± 6.7	2.5 ± 1.1	3.7 ± 0.8	63.2 ± 7.0
11.0	67.5	9109 ± 379	19.4 ± 7.1	2.8 ± 0.9	0.3 ± 0.4	8.3 ± 1.9	69.1 ± 7.6
11.5	71.0	10516 ± 1533	23.1 ± 3.5	6.1 ± 5.2	1.4 ± 1.3	5.5 ± 2.5	64.3 ± 5.3
14.0	76.0	8286 ± 595	16.3 ± 1.9	12.3 ± 4.5	1.6 ± 0.4	4.4 ± 2.1	65.3 ± 1.2
15.5	78.5	10367 ± 804	24.1 ± 4.6	12.9 ± 2.9	1.4 ± 0.8	3.3 ± 0.8	58.4 ± 6.3
20.0	90.0	11280 ± 483	34.3 ± 1.3	10.3 ± 1.7	2.3 ± 0.9	8.7 ± 0.9	44.4 ± 2.5
25.0	115+	12021 ± 1078	23.2 ± 2.7	20.0 ± 1.4	0.7 ± 0.4	4.0 ± 1.7	52.1 ± 2.1
Juvenile	—	18590 ± 1482	25.4 ± 2.8	9.2 ± 1.5	1.3 ± 0.6	5.6 ± 3.3	58.5 ± 5.8
Adult	—	18341 ± 1201	23.2 ± 2.3	7.3 ± 2.5	1.2 ± 0.5	6.3 ± 2.4	62.1 ± 1.9

\* Neutrophils in the newborn include 22.9% metamyelocytes and 17.6% myelocytes.

In addition to the cell types reported here, an unidentified cell was found in all animals up to the age of 8.0 days and accounted for 0.25 ± 0.008%, 0.40 ± 0.02% and 0.2 ± 0.003% of the cells in the newborn, 4.5 and 8.0 day animals respectively.

WBC: leucocitos

**Tabla 8. XVI.**

Valores de laboratorio determinados para *D. albiventris* por García y col. (1998a y b).

LABORATORIO NORMAL EN 10 ANIMALES		
	MACHOS	HEMBRAS
Hematocrito	43 - 55%	45 - 50%
G. Blancos	6700 - 11000/ mm <sup>3</sup>	6700 - 11000/ mm <sup>3</sup>
Glucemia	0,50 - 1,00 g/L	0,76 - 1,00 g/L
Urea	0,48 - 0,60 g/L	0,43 - 0,60 g/L
Uricemia	0,40 - 0,80 mg/dL	0,40 - 0,70 mg/dL
Colesterolemia	122 - 300 mg / dL	122 - 200 mg/dL
Trigliceridemia	120 - 300 mg /dL	119 - 200 mg/dL
Amilaseamia	116 - 130 U/I	116 - 130 U/I
Calcemia	8 - 10 mg/dL	8 - 10 mg/dL
TGO	65 - 450 U/I	30 - 450 U/I
TGP	12 - 300 U/I	14 - 340 U/I
Bilirrubina	S.A.	S.A.
CPK	550 -800 U/I	100 - 150 U/I
LDH	109 - 300 U/I	110 - 130 U/I
Lipasemia	150 - 300 U/I	119 - 200 U/I
Fosfatasa Alcalina	100 - 200 U/I	200 - 250 U/I
Creatinina	0,86 - 0,90 mg/dL	0,16 - 0,50 mg/dL

CPK: creatin-fosfokinasa

LDH: láctico deshidrogenasa

Casagrande y col. (2009) obtuvo las muestras por punción de vena caudal y de vena mamaria en algunas hembras; utilizó como anestesia Ketamina y Xilacina a dosis de 8 mg/kg y 1 mg/kg respectivamente por vía intramuscular. Estos autores establecieron comparaciones por sexo y edad intraespecíficos (**Tabla 8. XVII. a.** y **8. XVII. b.**) Para los estudios con *D. aurita* utilizó la misma técnica y dosis que para *D. albiventris*. Los animales utilizados eran en su gran mayoría silvestres, sólo un 13 % eran de cautiverio para *D. aurita* y apenas un 3 % para *D. albiventris*. El cautiverio implicaba animales de zoológicos o reservas naturales, con lo que queda descartada la condición de laboratorio.

### Objetivos:

Como primer objetivo, se plantea establecer valores sanguíneos de referencia para dos especies de Marsupiales americanos escasamente estudiados en diversos aspectos: *Didelphis albiventris* (zarigüeya overa) y *Lutreolina crassicaudata* (zarigüeya colorada).

Un segundo objetivo es comparar los valores hemáticos y bioquímicos en dos grupos de *D. albiventris*, uno recién llegado al Bioterio y otro ya aclimatado a las condiciones de cautividad en nuestro Bioterio.

De esta manera, se intenta averiguar si el proceso de adaptación a nuestras condiciones de cautividad en bioterio se ven reflejadas, de alguna manera, en los parámetros sanguíneos.

**Tabla 8. XVII. a.**

La media y desviación estándar de los valores hematológicos de *Didelphis aurita* y *Didelphis albiventris* del Estado de São Paulo, según la edad (Casagrande y col., 2009).

Valores Hematológicos	<i>D. aurita</i>		<i>D. albiventris</i>	
	Filhotes (n = 46)	Adultos (n = 37)	Filhotes (n = 29)	Adultos (n = 6)
Hematócrito <sup>a</sup>	30,18 ± 6,90	31,85 ± 8,00	25,69 ± 3,70	33,17 ± 14,01
Eritrócito <sup>b</sup>	3,39 ± 1,11	4,30 ± 1,55	3,93 ± 1,52	4,87 ± 1,68
Proteínas totais <sup>c</sup>	7,15 ± 0,99	8,49 ± 1,04	7,93 ± 1,06	8,23 ± 0,61
Hemoglobina <sup>d</sup>	8,71 ± 2,24	10,96 ± 3,44	10,23 ± 2,71	10,27 ± 2,79
VCM <sup>e</sup>	93,65 ± 23,62	78,13 ± 18,13	74,88 ± 27,68	71,34 ± 23,74
HCM <sup>f</sup>	27,09 ± 7,44	26,41 ± 6,42	28,63 ± 9,27	22,86 ± 9,09
CHCM <sup>g</sup>	30,40 ± 11,49	64,59 ± 8,12	40,13 ± 10,42	32,48 ± 2,43
Leucócitos <sup>h</sup>	5.126 ± 3.945	8.205 ± 4.950	4.667 ± 4.027	11.683 ± 7.245
Neutrófilos totais <sup>i</sup>	1.310 ± 2.283	2.761 ± 2.966	1.274 ± 2.586	6.007 ± 6.250
Linfócitos totais <sup>j</sup>	3.239 ± 2.234	3.653 ± 2.431	3.151 ± 3.045	4.389 ± 1.928
Monócitos totais <sup>k</sup>	101,5 ± 107,9	363,2 ± 308,7	152,7 ± 180,4	455,0 ± 378,0
Eosinófilos totais <sup>l</sup>	456,1 ± 464,4	1.362,0 ± 1.114,0	67,8 ± 91,4	803,0 ± 840,0
Basófilos totais <sup>m</sup>	19,76 ± 48,68	65,90 ± 127,00	21,50 ± 56,60	30,80 ± 75,30

<sup>a</sup>%, <sup>b</sup>x 10<sup>6</sup> células µL<sup>-1</sup>, <sup>c</sup>g dL<sup>-1</sup>, <sup>d</sup>fl, <sup>e</sup>pg, <sup>f</sup>células µL<sup>-1</sup>.

**Tabla 8. XVII. b.**

La media y desviación estándar de los valores hematológicos de *Didelphis aurita* y *D. albiventris* del Estado de São Paulo, según la sexo (Casagrande y col., 2009).

Valores hematológicos	<i>D. aurita</i>		<i>D. albiventris</i>	
	Machos (n = 38)	Fêmeas (n = 45)	Machos (n = 23)	Fêmeas (n = 12)
Hematócrito <sup>a</sup>	31,22 ± 7,81	30,68 ± 7,15	27,63 ± 7,92	25,71 ± 4,60
Eritrócito <sup>b</sup>	4,10 ± 1,61	3,54 ± 1,13	4,15 ± 1,69	4,00 ± 1,34
Proteínas totais <sup>c</sup>	7,90 ± 1,22	7,61 ± 1,20	7,47 ± 1,18	7,59 ± 0,77
Hemoglobina <sup>d</sup>	10,29 ± 3,44	9,22 ± 2,59	10,27 ± 2,76	10,17 ± 2,64
VCM <sup>e</sup>	82,12 ± 24,44	90,62 ± 20,38	76,08 ± 28,71	70,82 ± 23,33
HCM <sup>f</sup>	26,52 ± 8,27	34,38 ± 13,00	27,71 ± 9,88	27,52 ± 8,70
CHCM <sup>g</sup>	27,00 ± 5,75	30,49 ± 6,93	38,37 ± 10,96	39,67 ± 8,80
Leucócitos <sup>h</sup>	5.637 ± 4.621	7.226 ± 4.610	5.633 ± 5.795	6.325 ± 4.458
Neutrófilos totais <sup>i</sup>	1.651 ± 2.049	2.215 ± 3.135	2.140 ± 4.311	1.979 ± 2.778
Linfócitos totais <sup>j</sup>	2.980 ± 2.341	3.798 ± 2.259	3.111 ± 3.028	3.847 ± 2.694
Monócitos totais <sup>k</sup>	226,2 ± 311,3	211,3 ± 200,5	221,7 ± 252,0	171,5 ± 245,4
Eosinófilos totais <sup>l</sup>	749,0 ± 821,0	953,0 ± 1016,0	145,7 ± 442,5	286,0 ± 425,0
Basófilos totais <sup>m</sup>	31,13 ± 57,47	48,10 ± 117,00	13,83 ± 40,09	40,90 ± 83,90

<sup>a</sup>%, <sup>b</sup>x 10<sup>6</sup> células µL<sup>-1</sup>, <sup>c</sup>g dL<sup>-1</sup>, <sup>d</sup>fl, <sup>e</sup>pg, <sup>f</sup>células µL<sup>-1</sup>.

## **Materiales y método.**

Fue tomado un lote de animales pertenecientes a las especies *D. albiventris* y *L. crassicaudata* a la Colonia de Armadillos y Marsupiales del Instituto de Neurociencia.

Se detallan los resultados obtenidos en ambas especies de las siguientes determinaciones sanguíneas: recuento de hematíes y leucocitos y porcentaje y volúmenes de hemoglobina dentro de los estudios hematimétricos. Así mismo se determinaron valores de bioquímica sanguínea como: albúmina, amilasa, calcio, colesterol, fosfatasa alcalina, fósforo, glucosa, **GOT** (glutámico-oxalacético transaminasa), denominada también aspartato aminotransferasa (**AST**), **GPT** (glutámico-pirúvico transaminasa), también llamada alanina aminotransferasa (**ALT**), lípidos totales, fosfolípidos, triglicéridos, proteínas totales, relación albúmina-globulina, urea.

Se confeccionaron tablas comparativas con los datos obtenidos.

Se utilizaron doce (12) ejemplares de *D. albiventris*, cinco (5) hembras y siete (7) machos y doce (12) de *L. crassicaudata*, ocho (8) hembras y cuatro (4) machos. Todos adultos, mantenidos y adaptados por más de un año a las condiciones de laboratorio ya descritas (Petersen y col., 1984; Iodice y col. 1985; Iodice y col. 1986 a; Iodice y Affanni, 1988 a; Iodice y col., 2007).

También se utilizaron trece (13) ejemplares de *D. albiventris* recién capturados y que pasarían a formar parte del pie de cría de la Colonia. Estos animales provenían de la localidad de Coronel Brandsen (provincia de Buenos Aires, Argentina: 35° 10'S // 58° 14'O).

La alimentación consistió en alimento balanceado para caninos con una composición centesimal descrita en la **Tabla 8. I**.

El agua fue administrada *ad-libitum*, recibieron entre 150 y 200 g de alimento sólido por día dependiendo de la especie y estado nutricional general.

Para la toma de muestras los animales fueron anestesiados con una asociación de drogas (sedante + anestésico) de uso rutinario en el ámbito veterinario: acetilpromazina y clorhidrato de ketamina, a dosis de 1 mg/kgpv y 30 mg/kgpv respectivamente. Se utilizó la vía intramuscular.

Las muestras fueron extraídas por punción cardíaca. Se utilizaron agujas 25 x 0,8 (21 G 1) para *L. crassicaudata* y 40 x 0,8 (21 G 1 ½) para *D. albiventris* y jeringas de 3 mL. Para el material destinado a estudios hematológicos se utilizó EDTA como anticoagulante.

Para los estudios de bioquímica sanguínea se optimizó la separación del suero por centrifugación.

Los estudios de células y bioquímica sanguínea fueron realizados en laboratorios independientes. El hematocrito se obtuvo por microhematocrito, la hemoglobina se determinó a través del método colorimétrico, el recuento de hematíes se efectuó con cámara de Thoma, el de leucocitos con cámara de Neubauer y el porcentaje de reticulocitos por coloración vital.

Para las determinaciones bioquímicas sanguíneas se utilizaron kits comerciales de los laboratorios Boehringer y Wiener.

Las muestras fueron tomadas entre los meses de julio y agosto.

## **Resultados.**

En las Tablas **8. XVIII. a., b. y c.** se muestran los datos del hemograma obtenidos de hembras y machos de *D. albiventris* adaptados a las condiciones de bioterio, y su tratamiento estadístico. En las Tablas **8. XIX. a., b. y c.** se muestran los datos de bioquímica sanguínea obtenidos de hembras y machos de *D. albiventris* y su tratamiento estadístico.

En las Tablas **8. XX. a., b. y c.** se muestran los datos del hemograma obtenidos de hembras y machos de *L. crassicaudata*, y su tratamiento estadístico. En las Tablas **8. XXI. a., b. y c.** se muestran los datos de bioquímica sanguínea obtenidos de hembras y machos de *L. crassicaudata*, y su tratamiento estadístico.

En las Tablas **8. XXII. a., b. y c.** se muestran los datos del hemograma obtenidos de hembras y machos de *D. albiventris* recién capturadas y mantenidas en condiciones de bioterio por sólo tres días, y su tratamiento estadístico. En las Tablas **8. XXIII. a., b. y c.** se muestran los datos de bioquímica sanguínea obtenidos de hembras y machos de *D. albiventris* recién capturadas y con sólo tres días de mantenimiento en condiciones de bioterio, y su tratamiento estadístico.

Para la comparación estadística se utilizó un ANOVA de dos Factores, con un factor= especie y otro factor= sexo. Para aislar cual grupo difiere del otro se utilizó comparaciones múltiples utilizando el test de Bonferroni. El paquete estadístico utilizado fue el SigmaStat 3.5 (Systat Software Inc., Alemania). Se trabajó con un nivel de significación de  $P < 0,05$ .

**Abreviaturas de las siguientes tablas:**

<b>Da.</b>	<i>Didelphis albiventris</i>
<b>Lc.</b>	<i>Lutreolina crassicaudata</i>
<b>H 1</b>	Hembra n°
<b>M 1</b>	Macho n°

<b>Estadística:</b>	
<b>M:</b>	Media aritmética
<b>D E:</b>	Desvío estándar.
<b>E S M:</b>	Error estándar medio.
<b>IC:</b>	Intervalo de confianza.
<b>m:</b>	Mediana

<b>Bioquímica sanguínea:</b>	
<b>Ur:</b>	Urea (mg %)
<b>Glu:</b>	Glucemia (mg %)
<b>Ca:</b>	Calcio (mg %)
<b>P:</b>	Fósforo inorgánico (mg %)
<b>FASA:</b>	Fosfatasa alcalina (mg %)
<b>GPT:</b>	Glutámico-pirúvico transaminasa (UI/L)
<b>GOT:</b>	Glutámico-oxalacético transaminasa (UI/L)
<b>Ami:</b>	Amilasa (UI/L)
<b>Lip:</b>	Lípidos totales (mg/dL)
<b>Trig:</b>	Triglicéidos (mg/dL)
<b>Col:</b>	Colesterol (mg/dL)
<b>Fos:</b>	Fosfolípidos (mg/dL)
<b>Prot:</b>	Proteínas totales (g/dL)
<b>Alb</b>	Albumina (g/dL)
<b>A/G</b>	Relación albumina/globulina

<b>Hemograma:</b>	
<b>g. r.:</b>	Glóbulos rojos o hematies (millón/mm <sup>3</sup> ).
<b>Ht:</b>	Hematocrito (%).
<b>Hb:</b>	Hemoglobina (g/dL)
<b>VCM:</b>	Volumen corpuscular medio (μ <sup>3</sup> ).
<b>CHCM:</b>	Concentración de hemoglobina corpuscular media (%).
<b>I. R.:</b>	Índice de reticulocitos (% reticulocitos).
<b>g. b.:</b>	Glóbulos blancos o leucocitos (mil/mm <sup>3</sup> ).
<b>Neu:</b>	Neutrófilos segmentados (%).
<b>Lin:</b>	Linfocitos (%).
<b>Mon:</b>	Monocitos (%).
<b>Eos:</b>	Eosinófilos (%).

**Tabla 8. XVIII. a.**

Valores hematimétricos de *Didelphis albiventris* hembras adaptadas a las condiciones de bioterio por más de seis meses.

<b>HEMBRAS</b>											
<b>Hemograma</b>	<b>g. r.</b>	<b>Ht</b>	<b>Hb</b>	<b>VCM</b>	<b>CHCM</b>	<b>I. R.</b>	<b>g. b.</b>	<b>Neu</b>	<b>Lin</b>	<b>Mon</b>	<b>Eos</b>
<i>D. albiventris</i>											
<b>Da. H 1</b>	3,29	34	10,7	103	31	2	7,70	44	38	10	8
<b>Da. H 2</b>	3,68	32	9,9	88	30	2	6,10	44	32	16	8
<b>Da. H 3</b>	3,96	32	4,8	82	15	5	6,40	48	30	12	10
<b>Da. H 4</b>	4,02	30	5,1	75	17	7	6,40	50	28	16	6
<b>Da. H 5</b>	4,10	32	14	78	33	6	7,60	56	24	14	6

**Tabla 8. XVIII. b.**

Valores hematimétricos de *Didelphis albiventris* machos adaptados a las condiciones de bioterio por más de seis meses.

<b>MACHOS</b>											
<b>Hemograma</b>	<b>g. r.</b>	<b>Ht</b>	<b>Hb</b>	<b>VCM</b>	<b>CHCM</b>	<b>I. R.</b>	<b>g. b.</b>	<b>Neu</b>	<b>Lin</b>	<b>Mon</b>	<b>Eos</b>
<i>D. albiventris</i>											
<b>Da. M 1</b>	3,69	21	8.1	73	20	4,5	8,70	54	37	4	5
<b>Da. M 2</b>	4,01	28	7.7	88	33	4	7,00	55	27	10	8
<b>Da. M 3</b>	4,67	43	13.6	93	31	0	9,30	60	20	16	4
<b>Da. M 4</b>	4,26	45	10.7	107	23	0	9,10	56	32	8	4
<b>Da. M 5</b>	3,68	28	4.8	77	17	3	9,50	50	38	12	0
<b>Da. M 6</b>	3,57	26	3.7	74	14	0	5,70	60	26	14	0
<b>Da. M 7</b>	3,15	25	13.6	80	34	0	4,70	60	20	10	10

**Tabla 8. XVIII. c.**

Estadística descriptiva de los valores hematimétricos de hembras (n=5) y machos (n=7) de *Didelphis albiventris* adaptados a las condiciones de bioterio por más de seis meses.

<i>D. albiventris</i> Hemograma	HEMBRAS					MACHOS				
	M	DE	ESM	IC	m	M	DE	ESM	IC	m
g. r.	3,810	0,331	0,148	0,411	3,960	3,861	0,498	0,188	0,461	3,690
Ht	32,00	1,4	0,6	1,7	32,0	30,8	9,3	3,5	8,6	28,0
Hb	8,90	3,92	1,75	4,87	9,90	8,88	3,94	1,49	3,65	8,10
VCM	85,2	11,1	4,9	13,7	82,0	84,6	12,3	4,6	11,4	80,0
CHCM	25,2	8,5	3,8	10,5	30,0	24,6	8,1	3,1	7,5	23,0
I. R.	4,40	2,30	1,03	2,86	5,00	1,64	2,09	0,79	1,94	0,00
g. b.	6,840	0,750	0,336	0,932	6,400	7,714	1,926	0,728	1,781	8,700
Neu	48,4	4,9	2,2	6,2	48,0	56,4	3,8	1,4	3,5	56,0
Lin	30,4	5,2	2,3	6,4	30,0	28,6	7,4	2,8	6,8	27,0
Mon	13,6	2,6	1,2	3,2	14,0	10,6	3,9	1,5	3,6	10,0
Eos	7,6	1,7	0,7	2,1	8,0	4,4	3,7	1,4	3,4	4,0

**Tabla 8. XIX a.**

Valores de bioquímica sanguínea de *Didelphis albiventris* hembras adaptadas a las condiciones de bioterio por más de seis meses.

HEMBRAS															
<i>D. albiventris</i> Bioq. Sang.	Ur	Glu	Ca	P	FASA	GPT	GOT	Ami	Líp	Trig	Col	Fos	Prot	Alb	A/G
Da. H 1	51	84	7.8	4.4	114	27	69	43	4	1.1	143	0.7	8.1	4.2	1.07
Da. H 2	53	87	8.3	3.9	82	34	96	37	5.6	1.2	121	0.5	8	3.7	0.86
Da. H 3	43	97	8.1	5	104	39	84	31	6.4	1.3	150	1.5	7	3	0.75
Da. H 4	32	62	7.1	4.1	104	37	61	29	6.4	1.4	177	0.9	5	2.2	0.78
Da. H 5	36	67	7.5	3.4	80	37	104	27	2.8	1.9	106	1.3	4.9	2.1	0.75

**Tabla 8. XIX. b.**

Valores de bioquímica sanguínea de *Didelphis albiventris* machos adaptados a las condiciones de bioterio por más de seis meses.

MACHOS															
<i>D. albiventris</i> Bioq. Sang.	Ur	Glu	Ca	P	FASA	GPT	GOT	Ami	Líp	Trig	Col	Fos	Prot	Alb	A/G
Da. M 1	45	72	7.8	3.5	96	43	109	39	4.4	0.8	180	0.4	7.4	3.1	0.72
Da. M 2	57	103	8.2	3.7	82	61	105	27	4.8	0.9	150	0.4	7.6	3.2	0.72
Da. M 3	18	51	10.1	2.8	114	49	73	34	8.5	0.9	146	1.3	6	2.9	0.93
Da. M 4	23	48	10.3	3.7	100	44	67	18	10	0.7	146	1.3	5.7	2.7	0.9
Da. M 5	59	103	8.1	4.8	86	46	69	29	5.7	1.4	150	1.2	7.2	2.3	0.47
Da. M 6	38	91	8.1	3.7	130	50	74	25	5	1.8	120	1.6	6.9	2.8	0.68
Da. M 7	21	63	7.1	4.6	92	51	124	31	10	1.4	175	1.3	6	1.8	0.43

**Tabla 8. XIX. c.**

Estadística descriptiva de los valores de bioquímica sanguínea de hembras (n=5) y machos (n=7) de *Didelphis albiventris* adaptadas a las condiciones de bioterio por más de seis meses.

<i>D. albiventris</i> Bioq. Sang.	HEMBRAS					MACHOS				
	M	DE	ESM	IC	m	M	DE	ESM	IC	m
Ur	43,0	9,1	4,1	11,3	43,0	37,3	17,1	6,5	15,8	38,0
Glu	79,4	14,5	6,5	18,0	84,0	75,8	23,4	8,8	21,6	72,0
Ca	7,8	0,5	0,2	0,6	7,8	8,5	1,2	0,4	1,1	8,1
P	4,2	0,6	0,3	0,7	4,1	3,8	0,7	0,2	0,6	3,7
FASA	96,8	15,0	6,7	18,6	104,0	100,0	16,8	6,3	15,5	96,0
GPT	34,8	4,7	2,1	5,8	37,0	49,1	6,0	2,3	5,6	49,0
GOT	82,8	17,9	8,0	22,3	84,0	88,7	23,2	8,8	21,5	74,0
Ami	33,4	6,5	2,9	8,1	31,0	29,0	6,7	2,5	6,2	29,0
Lip	5,04	1,59	0,71	1,97	5,60	6,91	2,50	0,94	2,31	5,70
Trig	1,38	0,31	0,14	0,39	1,30	1,13	0,41	0,15	0,38	0,90
Col	139,4	27,3	12,2	33,9	143,0	152,4	20,1	7,6	18,5	150,0
Fos	0,98	0,41	0,18	0,51	0,90	1,07	0,47	0,18	0,44	1,30
Prot	6,60	1,57	0,70	1,94	7,00	6,69	0,77	0,29	0,71	6,90
Alb	3,04	0,92	0,41	1,14	3,00	2,69	0,49	0,18	0,45	2,80
A/G	0,842	0,135	0,0604	0,168	0,780	0,693	0,191	0,0723	0,177	0,720

**Tabla 8. XX. a.**

Valores hematimétricos de *Lutreolina crassicaudata* hembras adaptadas a las condiciones de bioterio por más de seis meses.

HEMBRAS											
Hemograma <i>L. crassicaudata</i>	g. r.	Ht	Hb	VCM	CHCM	I. R.	g. b.	Neu	Lin	Mon	Eos
Lc. H 1	4,12	26	8	104	30	17,5	2,60	44	26	16	14
Lc. H 2	3,30	31	7	114	28	12,5	3,60	44	26	18	12
Lc. H 3	3,40	30	9,9	115	33	12	2,70	36	32	18	14
Lc. H 4	4,72	33	12,1	90	36	5	3,80	44	34	14	8
Lc. H 5	4,20	34	9,9	80	29	3	2,40	32	38	20	10
Lc. H 6	3,01	31	10,7	103	34	8,5	2,80	36	34	22	8
Lc. H 7	4,43	42	11	95	26	2	3,00	34	30	20	16
Lc. H 8	4,85	50	14	84	28	3	3,60	34	32	24	10

**Tabla 8. XX. b.**

Valores hematimétricos de *Lutreolina crassicaudata* machos adaptados a las condiciones de bioterio por más de seis meses.

MACHOS											
Hemograma <i>L. crassicaudata</i>	g. r.	Ht	Hb	VCM	CHCM	I. R.	g. b.	Neu	Lin	Mon	Eos
Lc. M 1	4,55	31	8,8	98	29	3	2,00	48	26	12	14
Lc. M 2	3,80	33	9,2	86	27	7	1,70	58	14	10	18
Lc. M 3	4,78	37	11,8	78	31	5	1,90	54	22	10	14
Lc. M 4	4,44	45	11,8	102	26	6	1,60	52	24	14	10

**Tabla 8. XX. c.**

Estadística descriptiva de los valores hematimétricos de *Lutreolina crassicaudata* hembras (n=8) y machos (n=4) adaptados a las condiciones de bioterio por más de seis meses.

<i>L. crass.</i> Hemog.	HEMBRAS					MACHOS				
	M	DE	ESM	IC	m	M	DE	ESM	IC	m
g. r.	4,004	0,688	0,243	0,575	4,160	4,393	0,420	0,210	0,668	4,495
Ht	34,65	7,7	2,7	6,4	32,0	36,5	6,2	3,1	9,8	35,0
Hb	10,32	2,21	0,78	1,84	10,30	10,40	1,62	0,81	2,58	10,50
VCM	98,1	13,1	4,6	10,9	99,0	91,0	11,0	5,5	17,5	92,0
CHCM	30,5	3,5	1,2	2,9	29,5	28,2	2,2	1,1	3,5	28,0
I. R.	7,94	5,63	1,99	4,70	6,75	5,25	1,71	0,85	2,72	5,50
g. b.	3,063	0,532	0,188	0,444	2,900	1,800	0,183	0,0913	0,291	1,800
Neu	38,0	5,1	1,8	4,3	36,0	53,0	4,2	2,1	6,6	53,0
Lin	31,5	4,1	1,4	3,4	32,0	21,5	5,3	2,6	8,4	23,0
Mon	19,0	3,2	1,1	2,7	19,0	11,5	1,9	0,9	3,0	11,0
Eos	11,5	2,9	1,0	2,5	11,0	14,0	3,3	1,6	5,2	14,0

**Tabla 8. XXI. a.**

Valores de bioquímica sanguínea de *Lutreolina crassicaudata* hembras adaptadas a las condiciones de bioterio por más de seis meses.

HEMBRAS															
<i>L. crassicaudata</i> Bioq. Sang.	Ur	Glu	Ca	P	FASA	GPT	GOT	Ami	Lip	Trig	Col	Fos	Prot	Alb	A/G
Lc. H 1	84	93	8.6	3.9	78	29	70	227	3.6	0.6	122	1.5	8	2.8	0.54
Lc. H 2	78	101	8.8	4.6	68	31	73	249	5.2	0.7	92	0.7	7.5	2.3	0.44
Lc. H 3	81	120	8.1	4.8	68	21	77	236	3.2	0.8	106	1.1	8.2	3.4	0.71
Lc. H 4	81	85	9.5	5	84	16	87	203	3.9	0.9	94	0.8	5	1.9	0.61
Lc. H 5	73	89	6.9	6	46	15	82	288	3.6	1.4	86	0.9	4	1.9	0.9
Lc. H 6	89	87	6.9	5	68	15	77	203	2.9	1.2	84	0.8	4.2	1.9	0.83
Lc. H 7	100	89	8.2	3.3	72	20	99	199	3.1	1	114	1.5	5.9	2	0.51
Lc. H 8	100	156	6.5	3.2	40	17	99	231	3.4	1.1	114	1.2	5.4	2.4	0.8

**Tabla 8. XXI. b.**

Valores de bioquímica sanguínea de *Lutreolina crassicaudata* machos adaptados a las condiciones de bioterio por más de seis meses.

MACHOS															
<i>L. crassicaudata</i> Bioq. Sang.	Ur	Glu	Ca	P	FASA	GPT	GOT	Ami	Lip	Trig	Col	Fos	Prot	Alb	A/G
Lc. M 1	93	92	7.9	4.8	92	30	100	209	4	0.9	100	1.8	7.1	2.2	0.45
Lc. M 2	87	102	8.2	5	76	27	89	197	2.9	1	88	0.9	3.8	1.6	0.73
Lc. M 3	76	83	7.3	6.5	86	23	81	237	3.6	1.4	108	1.5	4	2.1	1.1
Lc. M 4	110	162	7.8	5	72	20	109	218	3.1	0.8	100	0.6	5	2.5	1

**Tabla 8. XXI. c.**

Estadística descriptiva de los valores de bioquímica sanguínea de hembras (n=8) y machos (n=4) *Lutreolina crassicaudata* adaptados a las condiciones de bioterio por más de seis meses.

<i>L. crassi</i> Bioq. Sang.	HEMBRAS					MACHOS				
	M	DE	ESM	IC	m	M	DE	ESM	IC	m
Ur	85,7	9,9	3,5	8,3	82,5	91,5	14,2	7,1	22,6	90,0
Glu	102,5	24,4	8,6	20,4	91,0	109,7	35,7	17,8	56,8	97,0
Ca	7,94	1,06	0,38	0,89	8,15	7,80	0,37	0,19	0,59	7,85
P	4,47	0,95	0,34	0,79	4,70	5,32	0,79	0,39	1,25	5,00
FASA	65,5	15,1	5,3	12,6	68,0	81,5	9,1	4,6	14,5	81,0
GPT	20,5	6,3	2,2	5,2	18,5	25,0	4,4	2,2	6,9	25,0
GOT	83,0	11,1	3,9	9,3	79,5	94,7	12,3	6,1	19,5	94,5
Ami	229,5	29,7	10,5	24,8	229,0	215,2	16,9	8,4	26,8	213,5
Lip	3,61	0,72	0,25	0,59	3,50	3,40	0,49	0,25	0,79	3,35
Trig	0,96	0,27	0,09	0,22	0,95	1,02	0,26	0,13	0,42	0,95
Col	101,5	14,4	5,1	12,0	100,0	99,0	8,2	4,1	13,1	100,0
Fos	1,06	0,32	0,11	0,26	1,00	1,20	0,55	0,27	0,87	1,20
Prot	6,02	1,68	0,59	1,40	5,65	4,97	1,51	0,75	2,40	4,50
Alb	2,32	0,54	0,19	0,45	2,15	2,10	0,37	0,19	0,59	2,15
A/G	0,667	0,167	0,0592	0,140	0,660	0,820	0,292	0,146	0,465	0,865

**Tabla 8. XXII. a.**

Valores hematimétricos de *Didelphis albiventris* hembras recién capturadas y con tres días de instaladas en el bioterio.

HEMBRAS											
Hemograma											
<i>D. albiventris</i>	g. r.	Ht	Hb	VCM	CHCM	I. R.	g. b.	Neu	Lin	Mon	Eos
Da. H 6	1,72	25	5,1	147	20	0	16,50	60	18	10	2
Da. H 7	3,40	30	6,3	100	21	2	11,00	38	30	24	8
Da. H 8	2,13	28	5,1	133	18	0,5	37,20	74	18	4	4
Da. H 9	1,45	34	5,9	242	17	1	10,00	52	30	2	16
Da. H 10	3,74	32	8,8	186	27	7	12,00	34	26	22	18

**Tabla 8. XXII. b.**

Valores hematimétricos de *Didelphis albiventris* machos recién capturados y con tres días de instalados en el bioterio.

MACHOS											
Hemograma											
<i>D. albiventris</i>	g. r.	Ht	Hb	VCM	CHCM	I. R.	g. b.	Neu	Lin	Mon	Eos
Da. M 8	2,25	40	6,6	181	16,5	7,5	10,60	32	38	22	8
Da. M 9	1,79	35	6,3	205	18	0,5	6,10	51	24	23	0
Da. M 10	2,45	38	7	158	18	0	10,30	60	32	6	2
Da. M 11	2,72	41	7	151	17	1	5,10	34	26	36	4
Da. M 12	3,53	43	8,1	122	18	0	10,90	78	12	8	2
Da. M 13	1,74	29	5,1	170	17	0	18,20	78	8	10	4
Da. M 14	1,19	40	6,6	363	16	0	18,60	48	26	26	0
Da. M 15	4,56	38	11	184	28	3	9,20	46	42	10	2

**Tabla 8. XXII. c.**

Estadística descriptiva de los valores hematimétricos de *Didelphis albiventris* hembras (n=5) y machos (n=8) recién capturados y con tres días de instalados en el bioterio.

<i>D. albiv.</i> Hemog	HEMBRAS					MACHOS				
	M	DE	ESM	IC	m	M	DE	ESM	IC	m
g. r.	2,488	1,024	0,458	1,272	2,130	2,529	1,083	0,383	0,905	2,350
Ht	29,8	3,5	1,6	4,3	30,0	38,0	4,3	1,5	3,6	39,0
Hb	6,24	1,52	0,68	1,89	5,90	7,21	1,74	0,62	1,46	6,80
VCM	161,6	54,5	24,4	67,7	147,0	191,7	73,5	25,9	61,4	175,5
CHCM	20,6	3,9	1,7	4,8	20,0	18,6	3,9	1,4	3,2	17,5
I. R.	2,10	2,84	1,27	3,52	1,00	1,50	2,63	0,93	2,20	0,25
g. b.	17,340	11,377	5,088	14,126	12,000	11,125	4,960	1,754	4,146	10,450
Neu	51,6	16,3	7,3	20,3	52,0	53,4	17,6	6,2	14,7	49,5
Lin	24,4	6,1	2,7	7,5	26,0	26,0	11,7	4,1	9,8	26,0
Mon	12,4	10,1	4,5	12,6	10,0	17,6	10,7	3,8	8,9	16,0
Eos	9,6	7,1	3,2	8,8	8,0	3,2	2,4	0,8	1,9	3,0

**Tabla 8. XXIII. a.**

Valores de bioquímica sanguínea de *Didelphis albiventris* hembras recién capturadas y con tres días de instaladas en el bioterio.

HEMBRAS															
<i>D. albiventris</i> Bioq. Sang.	Ur	Glu	Ca	P	FASA	GPT	GOT	Ami	Líp	Trig	Col	Fos	Prot	Alb	A/G
Da. H 6	32	93	6,8	4,1	86	15	42	163	6,1	4	101	1,1	4,8	2	0,71
Da. H 7	17	46	7,5	4,7	90	19	38	111	5,8	5	110	0,9	6	2,3	0,62
Da. H 8	29	59	7,8	4,4	96	20	46	122	4,9	3,5	98	1,2	6,3	1	0,19
Da. H 9	28	64	6,9	4,3	98	17	40	134	5,1	4,5	109	1,2	4,5	1,5	0,5
Da. H 10	61	72	8,4	4,6	68	6	30	125	2,8	7	92	1,7	5,4	2	0,59

**Tabla 8. XXIII. b.**

Valores de bioquímica sanguínea de *Didelphis albiventris* machos recién capturados y con tres días de instalados en el bioterio.

MACHOS															
<i>D. albiventris</i> Bioq. Sang.	Ur	Glu	Ca	P	FASA	GPT	GOT	Ami	Líp	Trig	Col	Fos	Prot	Alb	A/G
Da. M 8	64	71	6,9	4,1	106	16	30	131	4,1	4,1	110	1,3	6,1	3,2	0,91
Da. M 9	43	104	7,2	4,3	96	20	38	128	4,3	3,8	124	0,9	5,4	1,6	0,42
Da. M 10	31	53	7,7	3,9	102	24	41	145	5,2	4,5	134	1,5	5	1,2	0,32
Da. M 11	50	80	7,9	4,5	110	18	36	163	4,8	3,1	114	0,8	5	1,9	0,39
Da. M 12	47	103	7,3	3,5	94	28	46	110	5,5	2,9	136	1,1	6	3	1
Da. M 13	60	70	7	4,7	104	24	29	108	4,8	3,1	120	1,3	4	1,8	0,64
Da. M 14	52	67	6,8	3,9	96	14	30	115	4,3	2,7	132	0,9	5	1,9	0,39
Da. M 15	40	57	5,6	3,7	100	9	17	145	3,5	4,4	92	0,6	6,2	1	0,19

**Tabla 8. XXIII. c.**

Estadística descriptiva de los valores de bioquímica sanguínea de *Didelphis albiventris* hembras (n=5) y machos (n=8) recién capturadas y con tres días de instalados en el bioterio.

<i>D. albiv.</i> Bioq. sang.	HEMBRAS					MACHOS				
	M	DE	ESM	IC	m	M	DE	ESM	IC	m
Ur	33,4	16,4	7,3	20,4	29,0	48,4	10,7	3,8	8,9	48,5
Glu	66,8	17,4	7,8	21,6	64,0	75,6	19,1	6,8	15,9	70,5
Ca	7,48	0,66	0,29	0,82	7,50	7,05	0,69	0,25	0,58	7,10
P	4,42	0,24	0,11	0,29	4,40	4,07	0,41	0,14	0,34	4,00
FASA	87,6	11,9	5,3	14,8	90,0	101,0	5,5	1,9	4,6	101,0
GPT	15,4	5,6	2,5	6,9	17,0	19,1	6,2	2,2	5,2	19,0
GOT	39,2	5,9	2,6	7,4	40,0	33,4	8,9	3,1	7,4	33,0
Ami	131,0	19,7	8,8	24,4	125,0	130,6	19,4	6,9	16,3	129,5
Lip	4,94	1,29	0,58	1,61	5,10	4,56	0,64	0,23	0,53	4,55
Trig	4,80	1,35	0,60	1,68	4,50	3,57	0,71	0,25	0,59	3,45
Col	102,0	7,6	3,4	9,4	101,0	120,2	14,8	5,2	12,4	122,0
Fos	1,22	0,29	0,13	0,37	1,20	1,05	0,30	0,11	0,25	1,00
Prot	5,40	0,76	0,34	0,95	5,40	5,34	0,75	0,26	0,62	5,20
Alb	1,76	0,51	0,23	0,64	2,00	1,95	0,78	0,28	0,65	1,85
A/G	0,522	0,200	0,0895	0,249	0,590	0,533	0,290	0,102	0,242	0,405

Si se tiene en cuenta que *D. albiventris* y *L. crassicaudata* son especies que pertenecen a la misma familia de marsupiales, que comparten un similar territorio de distribución y habían sido expuestas a las mismas condiciones de cautividad en bioterio, consideramos interesante comparar los valores de sus parámetros sanguíneos.

A continuación, en la **Tabla 8. XXIV.**, se describen los resultados obtenidos de la comparación estadística de los valores del hemograma entre *D. albiventris* y *L. crassicaudata*, a partir del ANOVA de 2 Factores.

Los datos estadísticos muestran que en algunos parámetros hay diferencias significativas entre ambas especies: índice de reticulocitos (**IR**) (**Fig. 8. 3. a**), glóbulos blancos (**g. b.**) (**Fig. 8. 3. b.**), neutrófilos (**Neu**) (**Fig. 8. 3. c.**), linfocitos (**Lin**) (**Fig. 8. 3. d.**), monocitos (**Mon**) (**Fig. 8. 3. e.**) y eosinófilos (**Eos**) (**Fig. 8. 3. f.**). En el caso de **Neu** (**Fig. 8. 3. c.**), también hay diferencias significativas entre sexos, lo mismo que en **Mon** (**Fig. 8. 3. e.**). En el caso de **g. b.** (**Fig. 8. 3. b.**) y **Eos** (**Fig. 8. 3. f.**) hay además diferencia entre sexo de la misma especie.

**Tabla 8.XXIV.**

Comparación estadística entre los valores de hemograma entre las especies *D. albiventris* (machos=7; hembras=5) y *L. crassicaudata* (machos=4; hembras=8), tomando en cuenta el sexo. Se muestran los valores del estadístico F del ANOVA para cada factor y la interacción. Se considera una significación estadística de  $P < 0,05$  (**significativo con negrita**).

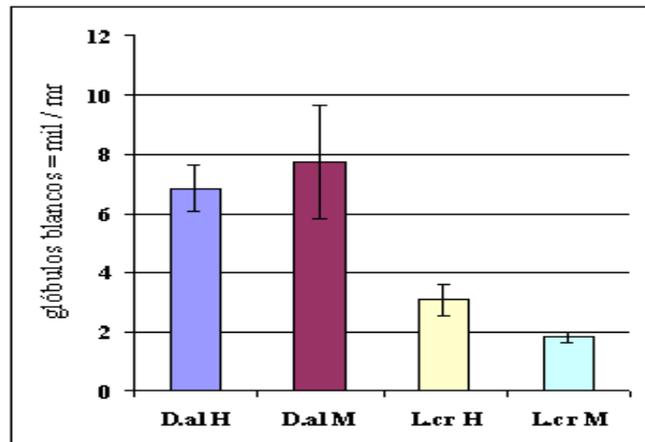
	g. r.		Ht		Hb		VCM	
	F	P	F	P	F	P	F	P
<b>Sexo (S)</b>	0,936	0,345	0,0141	0,907	0,000522	0,982	0,565	0,461
<b>Especie (E)</b>	2,539	0,127	1,801	0,195	1,223	0,282	3,521	0,075
<b>E x S</b>	0,550	0,467	0,240	0,630	0,00113	0,974	0,397	0,536

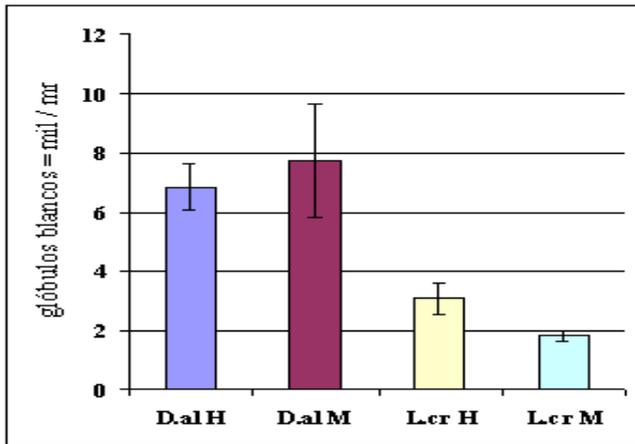
	CHCM		I. R.		g. b.	
	F	P	F	P	F	P
<b>Sexo (S)</b>	0,295	0,593	2,971	0,100	0,158	0,695
<b>Especie (E)</b>	2,875	0,105	<b>5,115</b>	<b>0,035</b>	<b>98,459</b>	<b>&lt;0,001</b>
<b>E x S</b>	0,0938	0,763	0,000486	0,983	<b>4,786</b>	<b>0,041</b>

	Neu		Lin		Mon		Eos	
	F	P	F	P	F	P	F	P
<b>Sexo (S)</b>	<b>34,936</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>6,130</b>	<b>0,022</b>	<b>15,145</b>	<b>&lt;0,001</b>	0,0665	0,799
<b>Especie (E)</b>	<b>12,598</b>	<b>0,002</b>	1,562	0,226	<b>5,472</b>	<b>0,030</b>	<b>26,764</b>	<b>&lt;0,001</b>
<b>E x S</b>	3,202	0,089	2,925	0,103	2,732	0,114	<b>4,744</b>	<b>0,042</b>

**Figuras 8. 3. a.**

Histograma comparativo entre los valores del Índice de Reticulocitos (**IR**) obtenidos para *D. albiventris* machos (D.al M; n=7) y hembras (D.al H; n=5) y *L. crassicaudata*, machos (L.cr M; n=4) y hembras (L.cr H; n=8) donde se puede visualizar la diferencia significativa entre especies.



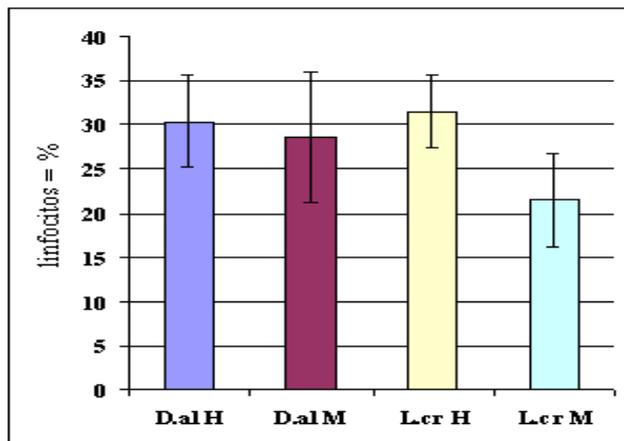
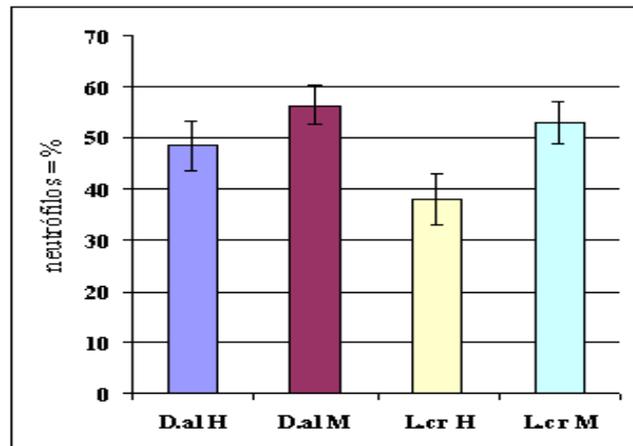


**Figuras 8. 3. b.**

Histograma comparativo entre los valores de glóbulos blancos (**g.b.**) obtenidos para *D. albiventris* machos (D.al M; n=7) y hembras (D.al H; n=5) y *L. crassicaudata*, machos (L.cr M; n=4) y hembras (L.cr H; n=8) donde se puede visualizar la diferencia significativa entre especies y entre sexos y especie.

**Figuras 8. 3. c.**

Histograma comparativo entre los valores de neutrófilos (**Neu**) obtenidos para *D. albiventris* machos (D.al M; n=7) y hembras (D.al H; n=5) y *L. crassicaudata*, machos (L.cr M; n=4) y hembras (L.cr H; n=8) donde se puede visualizar la diferencia significativa entre sexos y entre especies.

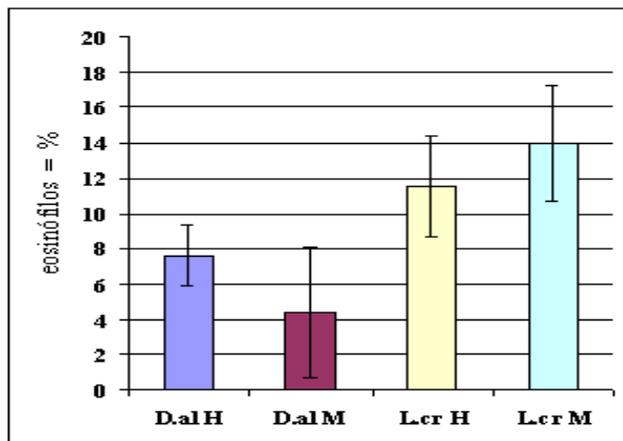
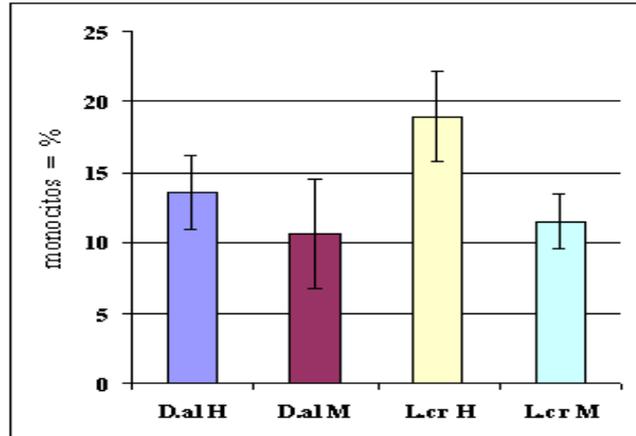


**Figuras 8. 3. d.**

Histograma comparativo entre los valores de linfocitos (**Lin**) obtenidos para *D. albiventris* machos (D.al M; n=7) y hembras (D.al H; n=5) y *L. crassicaudata*, machos (L.cr M; n=4) y hembras (L.cr H; n=8) donde se puede visualizar la diferencia significativa entre sexos.

**Figuras 8. 3. e.**

Histograma comparativo entre los valores de monocitos (**Mon**) obtenidos para *D. albiventris* machos (D.al M; n=7) y hembras (D.al H; n=5) y *L. crassicaudata*, machos (L.cr M; n=4) y hembras (L.cr H; n=8) donde se puede visualizar la diferencia significativa entre sexos y entre especies.



**Figuras 8. 3. f.**

Histograma comparativo entre los valores de eosinófilos (**Eos**) obtenidos para *D. albiventris* machos (D.al M; n=7) y hembras (D.al H; n=5) y *L. crassicaudata*, machos (L.cr M; n=4) y hembras (L.cr H; n=8) donde se puede visualizar la diferencia significativa entre especies y entre sexos y especies.

A continuación, en la **Tabla 8. XXV.**, se describen los resultados obtenidos de la comparación estadística de los valores de bioquímica sanguínea entre *D. albiventris* y *L. crassicaudata*, a partir del ANOVA de 2 Factores.

Por los datos se observa que para los valores de **GPT** (**Fig. 8. 4. a.**) hay diferencia entre sexos. También para **GPT** (**Fig. 8. 4. a.**) hay diferencia significativa entre especies, al igual que en **Ur** (**Fig. 8. 4. b.**), **Glu** (**Fig. 8. 4. c.**), **P** (**Fig. 8. 4. d.**), **FASA** (**Fig. 8. 4. e.**), **Ami** (**Fig. 8. 4. f.**), **Lip** (**Fig. 8. 4. g.**), **Col** (**Fig. 8. 4. h.**) y **Alb** (**Fig. 8. 4. i.**).

**Tabla 8. XXV.**

Comparación estadística entre los valores de bioquímica sanguínea entre las especies *D. albiventris* (machos=7; hembras=5) y *L. crassicaudata* (machos=4; hembras=8), tomando en cuenta el sexo. Se muestran los valores del estadístico F del ANOVA para cada factor y la interacción. Se considera una significación estadística de  $P < 0,05$  (**significativo con negrita**).

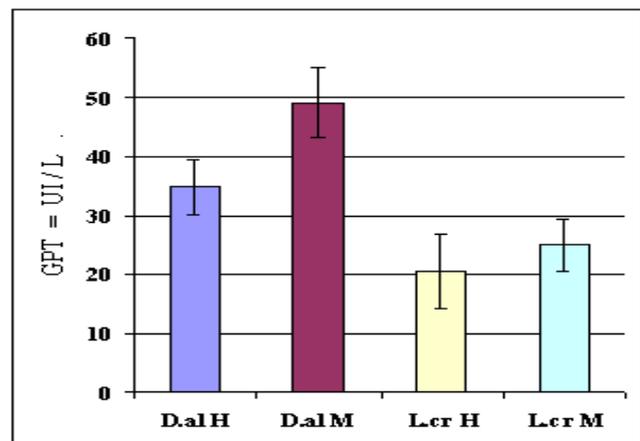
	Ur		Glu		Ca		P		FASA	
	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
Sexo (S)	0,0000105	0,997	0,0316	0,861	0,619	0,441	0,606	0,446	2,314	0,144
Especie (E)	<b>77,318</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>7,470</b>	<b>0,013</b>	0,472	0,500	<b>7,391</b>	<b>0,013</b>	<b>15,570</b>	<b>&lt;0,001</b>
E x S	1,081	0,311	0,268	0,610	1,276	0,272	3,144	0,091	1,029	0,323

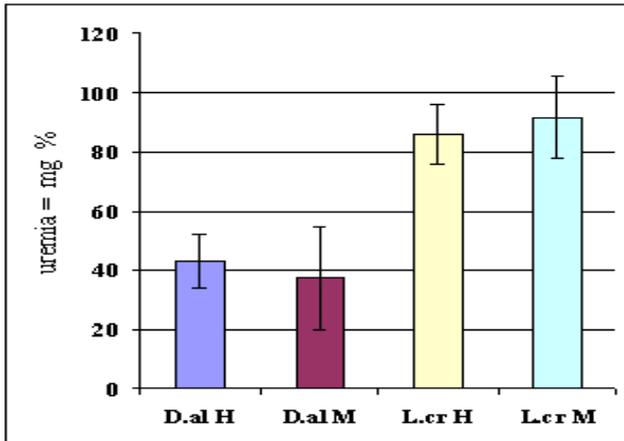
	GPT		GOT		Ami		Lip		Trig	
	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
Sexo (S)	<b>15,416</b>	<b>&lt;0,001</b>	1,484	0,237	1,295	0,269	1,482	0,238	0,476	0,498
Especie (E)	<b>64,168</b>	<b>&lt;0,001</b>	0,185	0,672	<b>544,376</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>13,102</b>	<b>0,002</b>	3,622	0,072
E x S	4,207	0,054	0,162	0,692	0,361	0,555	2,336	0,142	1,315	0,265

	Col		Fos		Prot		Alb		A / G	
	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
Sexo (S)	0,438	0,516	0,401	0,534	0,649	0,430	1,289	0,270	0,000422	0,984
Especie (E)	<b>32,921</b>	<b>&lt;0,001</b>	0,341	0,566	3,645	0,071	<b>6,497</b>	<b>0,019</b>	0,0839	0,775
E x S	0,952	0,341	0,0162	0,900	0,900	0,354	0,0642	0,803	3,406	0,080

**Figuras 8. 4. a.**

Histograma comparativo entre los valores de la enzima Glutámico Pirúvico transaminasa (GPT) obtenidos para *D. albiventris* machos (D.al M; n=7) y hembras (D.al H; n=5) y *L. crassicaudata*, machos (L.cr M; n=4) y hembras (L.cr H; n=8) donde se puede visualizar la diferencia significativa entre sexos y entre especies.

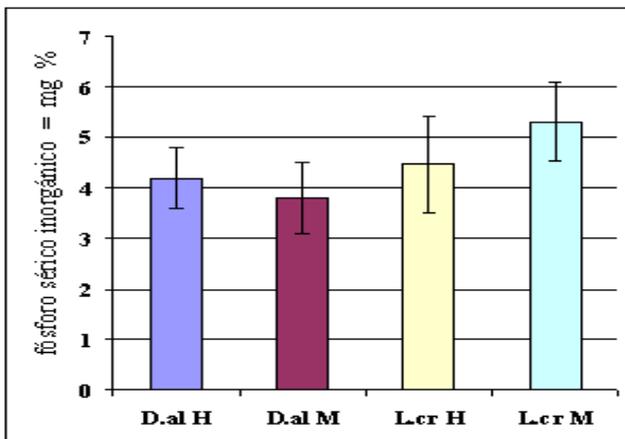
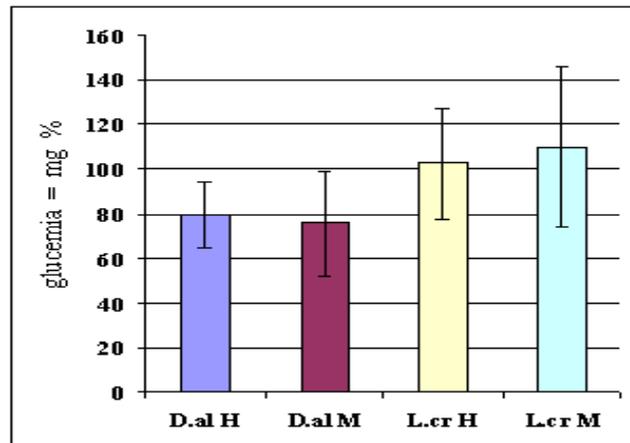




**Figuras 8. 4. b.**

Histograma comparativo entre los valores de uremia (**Ur**) obtenidos para *D. albiventris* machos (D.al M; n=7) y hembras (D.al H; n=5) y *L. crassicaudata*, machos (L.cr M; n=4) y hembras (L.cr H; n=8) donde se puede visualizar la diferencia significativa entre especies.

**Figuras 8. 4. c.**  
Histograma comparativo entre los valores de glucemia (**Glu**) obtenidos para *D. albiventris* machos (D.al M; n=7) y hembras (D.al H; n=5) y *L. crassicaudata*, machos (L.cr M; n=4) y hembras (L.cr H; n=8) donde se puede visualizar la diferencia significativa entre especies.

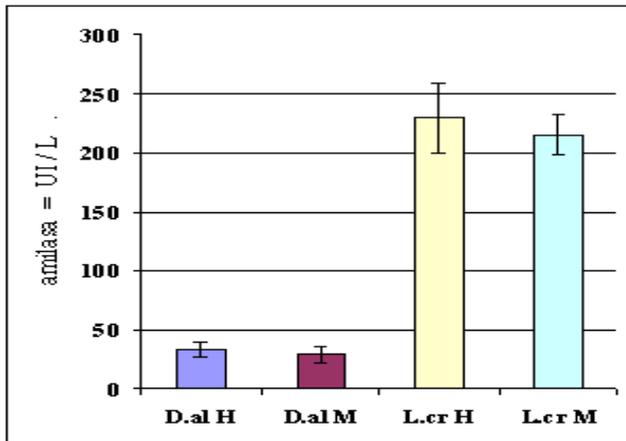
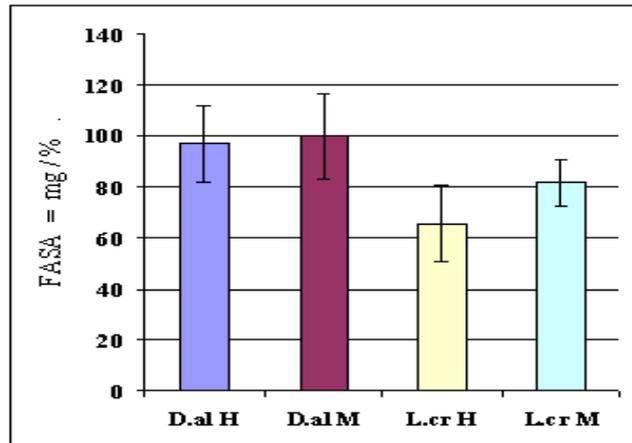


**Figuras 8. 4. d.**

Histograma comparativo entre los valores de fósforo sérico inorgánico (**P**) obtenidos para *D. albiventris* machos (D.al M; n=7) y hembras (D.al H; n=5) y *L. crassicaudata*, machos (L.cr M; n=4) y hembras (L.cr H; n=8) donde se puede visualizar la diferencia significativa entre especies.

**Figuras 8. 4. e.**

Histograma comparativo entre los valores de Fosfata Alcalina Sérica (FASA) obtenidos para *D. albiventris* machos (D.al M; n=7) y hembras (D.al H; n=5) y *L. crassicaudata*, machos (L.cr M; n=4) y hembras (L.cr H; n=8) donde se puede visualizar la diferencia significativa entre especies.

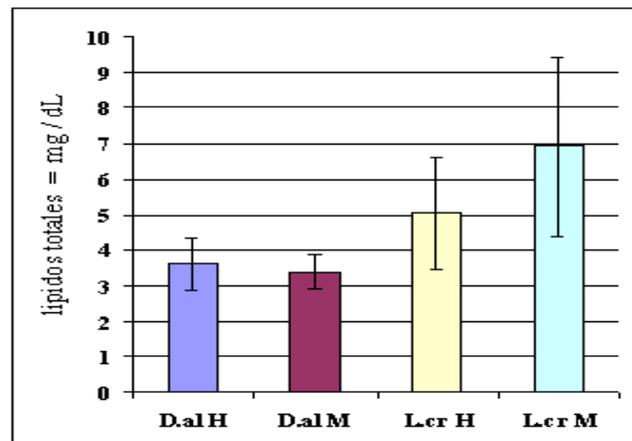


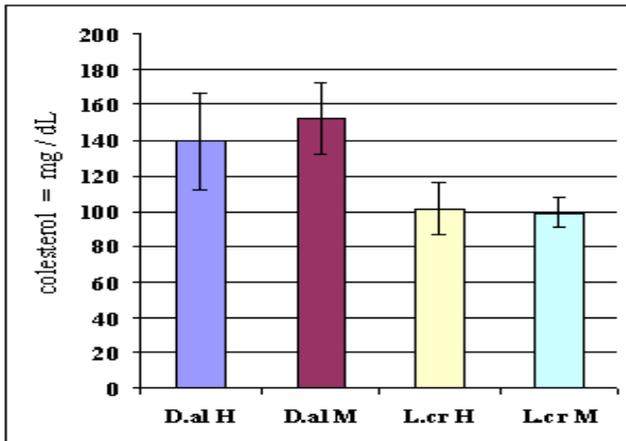
**Figuras 8. 4. f.**

Histograma comparativo entre los valores de amilasa sérica (Ami) obtenidos para *D. albiventris* machos (D.al M; n=7) y hembras (D.al H; n=5) y *L. crassicaudata*, machos (L.cr M; n=4) y hembras (L.cr H; n=8) donde se puede visualizar la diferencia significativa entre especies.

**Figuras 8. 4. g.**

Histograma comparativo entre los valores de lípidos totales séricos (Lip) obtenidos para *D. albiventris* machos (D.al M; n=7) y hembras (D.al H; n=5) y *L. crassicaudata*, machos (L.cr M; n=4) y hembras (L.cr H; n=8) donde se puede visualizar la diferencia significativa entre especies.



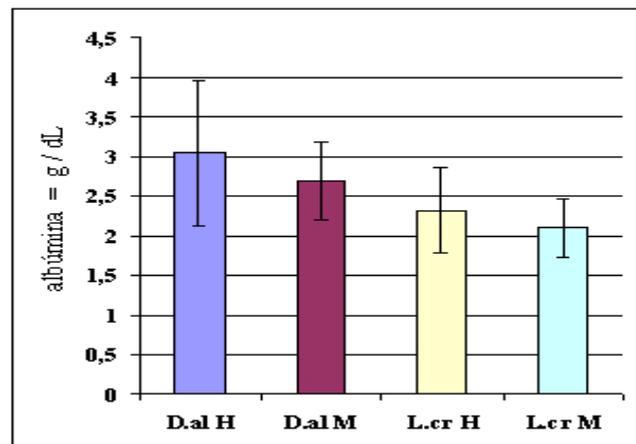


**Figuras 8. 4. h.**

Histograma comparativo entre los valores de colesterol sérico (Col) obtenidos para *D. albiventris* machos (D.al M; n=7) y hembras (D.al H; n=5) y *L. crassicaudata*, machos (L.cr M; n=4) y hembras (L.cr H; n=8) donde se puede visualizar la diferencia significativa entre especies.

**Figuras 8. 4. i.**

Histograma comparativo entre los valores de albúmina sérica (Alb) obtenidos para *D. albiventris* machos (D.al M; n=7) y hembras (D.al H; n=5) y *L. crassicaudata*, machos (L.cr M; n=4) y hembras (L.cr H; n=8) donde se puede visualizar la diferencia significativa entre especies.



A continuación, en la **Tabla 8. XXVI.**, se describen los resultados obtenidos de la comparación estadística de los valores del hemograma entre el grupo de *D. albiventris* adaptado a las condiciones de bioterio y los ejemplares recién incorporados a la Colonia, a partir del ANOVA de 2 Factores.

En las tablas anteriores se puede observar una diferencia significativa entre las zarigüeyas adaptadas a las condiciones de bioterio y las recién capturadas en valores como: **g.r.** (Fig. 8. 5. a.), **VCM** (Fig. 8. 5. b.) y **g.b.** (Fig. 8. 5. c.). También se observan diferencias entre sexo de la misma especie en **Eos.** (Fig. 8. 5. d.).

**Tabla 8. XXVI.**

Comparación estadística entre los valores del hemograma entre el grupo *D. albiventris* (machos=7; hembras=5) adaptado a las condiciones de bioterio y los ejemplares recién incorporados a la Colonia (machos=8; hembras=5), tomando en cuenta el sexo. Se muestran los valores del estadístico F del ANOVA para cada factor y la interacción. Se considera una significación estadística de  $P < 0,05$  (**significativo con negrita**).

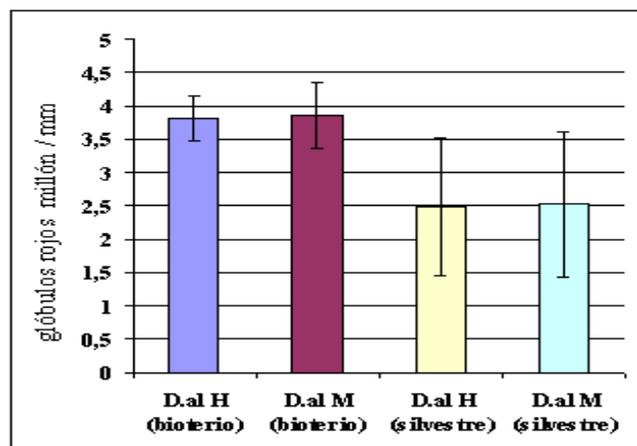
	g. r.		Ht		Hb		VCM	
	F	P	F	P	F	P	F	P
<b>Sexo (S)</b>	0,0186	0,893	2,213	0,152	0,156	0,697	0,536	0,472
<b>Grupo (G)</b>	<b>15,464</b>	<b>&lt;0,001</b>	1,086	0,309	3,185	0,089	<b>20,737</b>	<b>&lt;0,001</b>
<b>G x S</b>	0,000250	0,988	3,879	0,062	0,165	0,689	0,583	0,454

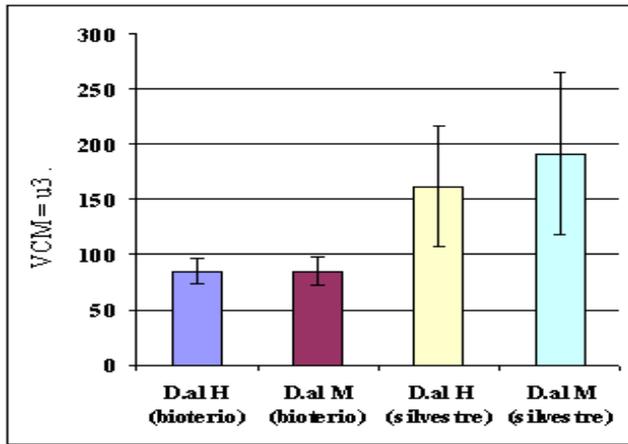
	CHCM		I. R.		g. b.	
	F	P	F	P	F	P
<b>Sexo (S)</b>	0,263	0,613	2,763	0,111	1,255	0,275
<b>Grupo (G)</b>	4,166	0,054	1,463	0,240	<b>8,517</b>	<b>0,008</b>
<b>G x S</b>	0,0735	0,789	1,141	0,298	2,212	0,152

	Neu		Lin		Mon		Eos	
	F	P	F	P	F	P	F	P
<b>Sexo (S)</b>	0,881	0,359	0,00107	0,974	0,114	0,739	<b>8,443</b>	<b>0,008</b>
<b>Grupo (G)</b>	0,000196	0,989	1,498	0,235	0,809	0,379	0,0628	0,804
<b>G x S</b>	0,358	0,556	0,240	0,630	1,608	0,219	0,941	0,343

**Figuras 8. 5. a.**

Histograma comparativo entre los valores de glóbulos rojos (**g.r.**) obtenidos para *D. albiventris* adaptadas a las condiciones de bioterio machos (D.al M bioterio; n=7) y hembras (D.al H bioterio; n=5) y las recién incorporadas a la colonia machos (D.al M silvestre; n=8) y hembras (D.al H silvestre; n=5) donde se puede visualizar la diferencia significativa entre grupos.



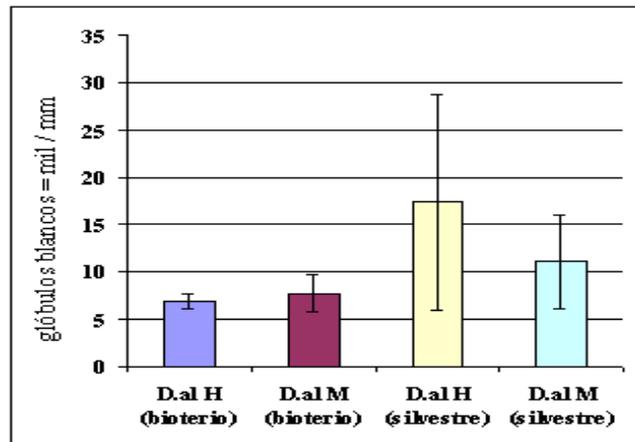


**Figuras 8. 5. b.**

Histograma comparativo entre los valores de Volumen Corpuscular Medio (VCM) obtenidos para *D. albiventris* adaptadas a las condiciones de bioterio machos (D.al M bioterio; n=7) y hembras (D.al H bioterio; n=5) y las recién incorporadas a la colonia machos (D.al M silvestre; n=8) y hembras (D.al H silvestre; n=5) donde se puede visualizar la diferencia significativa entre grupos.

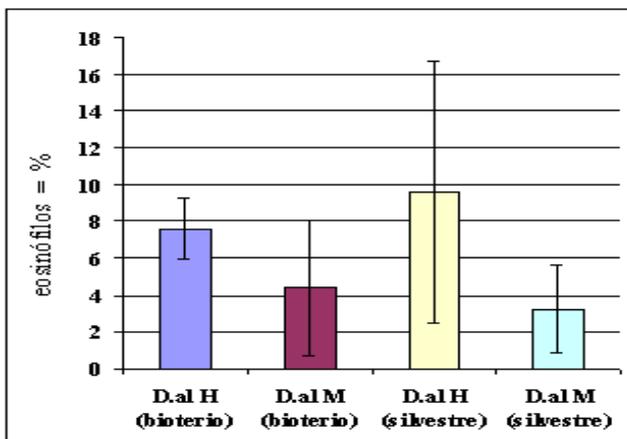
**Figuras 8. 5. c.**

Histograma comparativo entre los valores de glóbulos blancos (g.b.) obtenidos para *D. albiventris* adaptadas a las condiciones de bioterio machos (D.al M bioterio; n=7) y hembras (D.al H bioterio; n=5) y las recién incorporadas a la colonia machos (D.al M silvestre; n=8) y hembras (D.al H silvestre; n=5) donde se puede visualizar la diferencia significativa entre grupos.



**Figuras 8. 5. d.**

Histograma comparativo entre los valores de eosinófilos (Eos) obtenidos para *D. albiventris* adaptadas a las condiciones de bioterio machos (D.al M bioterio; n=7) y hembras (D.al H bioterio; n=5) y las recién incorporadas a la colonia machos (D.al M silvestre; n=8) y hembras (D.al H silvestre; n=5) donde se puede visualizar la diferencia significativa entre sexos.



A continuación, en la **Tabla 8. XXVII.**, se describen los resultados obtenidos de la comparación estadística de los valores de bioquímica sanguínea entre el grupo de *D. albiventris* adaptado a las condiciones de bioterio y los ejemplares recién incorporados a la Colonia, a partir del ANOVA de 2 Factores.

**Tabla 8. XXVII.**

Comparación estadística entre los valores de bioquímica sanguínea entre el grupo *D. albiventris* (machos=7; hembras=5) adaptado a las condiciones de bioterio y los ejemplares recién incorporados a la Colonia (machos=8; hembras=5), tomando en cuenta el sexo. Se muestran los valores del estadístico F del ANOVA para cada factor y la interacción. Se considera una significación estadística de  $P < 0,05$  (**significativo con negrita**).

	Ur		Glu		Ca		P		FASA	
	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
<b>Sexo (S)</b>	0,678	0,419	0,111	0,742	0,245	0,626	2,593	0,122	2,560	0,125
<b>Grupo (G)</b>	0,0175	0,896	0,656	0,427	<b>6,600</b>	<b>0,018</b>	1,453	0,241	0,625	0,438
<b>G x S</b>	3,386	0,080	0,609	0,444	3,066	0,095	0,00104	0,975	0,967	0,337

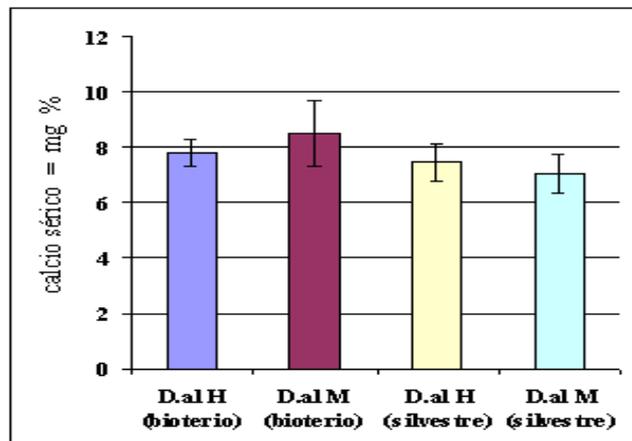
	GPT		GOT		Ami		Lip		Trig	
	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
<b>Sexo (S)</b>	<b>14,670</b>	<b>&lt;0,001</b>	0,0000479	0,995	0,154	0,698	1,232	0,280	<b>5,610</b>	<b>0,028</b>
<b>Grupo (G)</b>	<b>109,742</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>58,821</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>268,909</b>	<b>&lt;0,001</b>	3,306	0,083	<b>88,574</b>	<b>&lt;0,001</b>
<b>G x S</b>	5,066	<b>0,035</b>	0,828	0,373	0,110	0,744	2,789	0,110	2,439	0,133

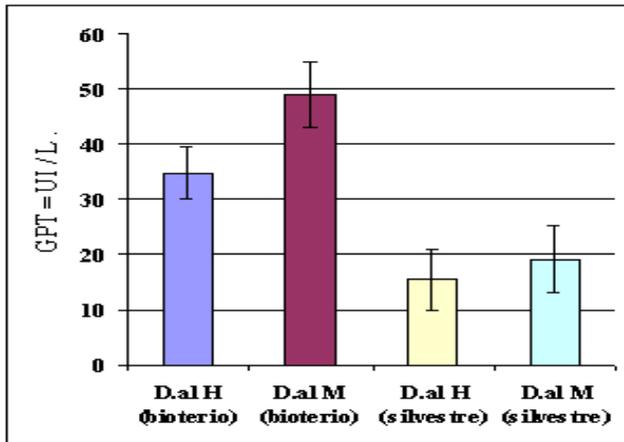
	Col		Fos		Prot		Alb		A / G	
	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
<b>Sexo (S)</b>	4,290	0,051	0,0641	0,803	0,000863	0,977	0,0838	0,775	0,580	0,455
<b>Grupo (G)</b>	<b>21,230</b>	<b>&lt;0,001</b>	0,496	0,489	<b>10,403</b>	<b>0,004</b>	<b>12,609</b>	<b>0,002</b>	<b>6,968</b>	<b>0,015</b>
<b>G x S</b>	0,120	0,733	0,709	0,409	0,0352	0,853	0,919	0,349	0,770	0,390

En los datos precedentes se observa una diferencia significativa entre grupos en **Ca** (Fig. 8. 6. a.), **GPT** (Fig. 8. 6. b.), **GOT** (Fig. 8. 6. c.), **Ami** (Fig. 8. 6. d.), **Trig** (Fig. 8. 6. e.), **Col** (Fig. 8. 6. f.), **Prot** (Fig. 8. 6. g.), **Alb** (Fig. 8. 6. h.) y **A/G** (Fig. 8. 6. i). Asimismo se destacan diferencias entre sexo de **GPT** (Fig. 8. 6. b.) y **Trig** (Figuras 8. 6. e.).

**Figuras 8. 6. a.**

Histograma comparativo entre los valores de calcio sérico (**Ca**) obtenidos para *D. albiventris* adaptadas a las condiciones de bioterio machos (D.al M bioterio; n=7) y hembras (D.al H bioterio; n=5) y las recién incorporadas a la colonia machos (D.al M silvestre; n=8) y hembras (D.al H silvestre; n=5) donde se puede visualizar la diferencia significativa entre grupos.



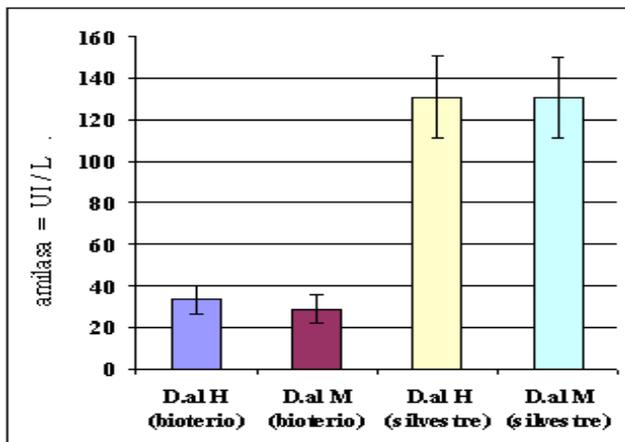
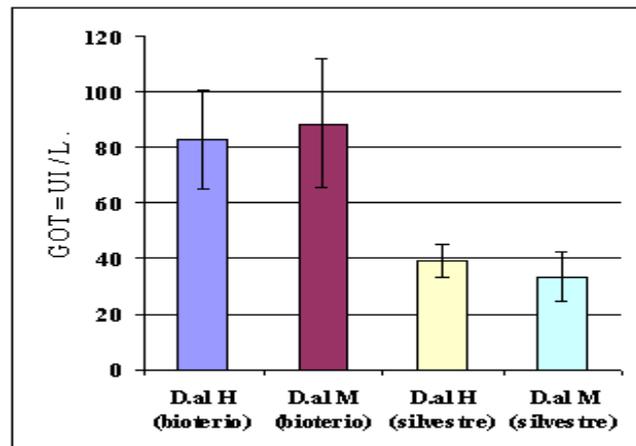


**Figuras 8. 6. b.**

Histograma comparativo entre los valores de la enzima Glutámico Pirúvico Transaminasa (GPT) obtenidos para *D. albiventris* adaptadas a las condiciones de bioterio machos (D.al M bioterio; n=7) y hembras (D.al H bioterio; n=5) y las recién incorporadas a la colonia machos (D.al M silvestre; n=8) y hembras (D.al H silvestre; n=5) donde se puede visualizar la diferencia significativa entre sexos y entre grupos.

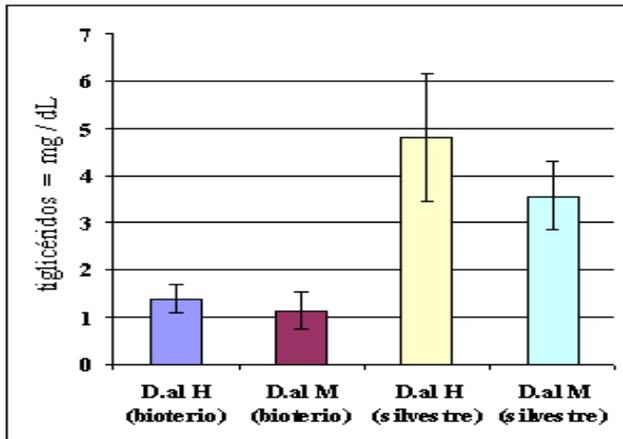
**Figuras 8. 6. c.**

Histograma comparativo entre los valores de la enzima Glutámico Oxalacético Transaminasa (GOT) obtenidos para *D. albiventris* adaptadas a las condiciones de bioterio machos (D.al M bioterio; n=7) y hembras (D.al H bioterio; n=5) y las recién incorporadas a la colonia machos (D.al M silvestre; n=8) y hembras (D.al H silvestre; n=5) donde se puede visualizar la diferencia significativa entre grupos.



**Figuras 8. 6. d.**

Histograma comparativo entre los valores de amilasa sérica (Ami) obtenidos para *D. albiventris* adaptadas a las condiciones de bioterio machos (D.al M bioterio; n=7) y hembras (D.al H bioterio; n=5) y las recién incorporadas a la colonia machos (D.al M silvestre; n=8) y hembras (D.al H silvestre; n=5) donde se puede visualizar la diferencia significativa entre grupos.

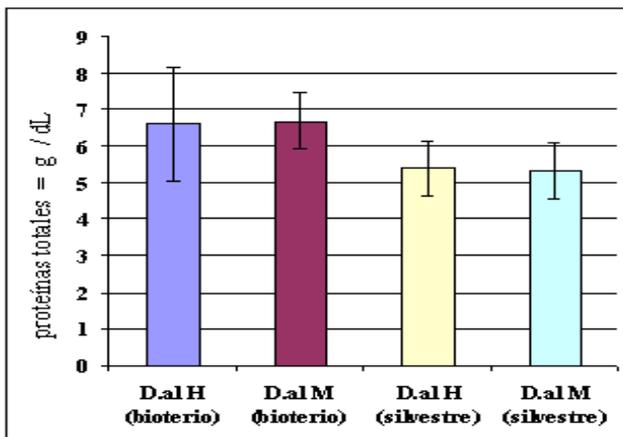
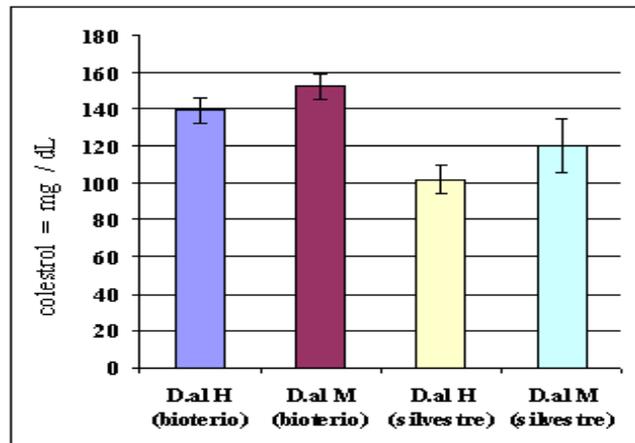


**Figuras 8. 6. e.**

Histograma comparativo entre los valores de triglicéridos (**Tri**) obtenidos para *D. albiventris* adaptadas a las condiciones de bioterio machos (D.al M bioterio; n=7) y hembras (D.al H bioterio; n=5) y las recién incorporadas a la colonia machos (D.al M silvestre; n=8) y hembras (D.al H silvestre; n=5) donde se puede visualizar la diferencia significativa entre sexos y entre grupos.

**Figuras 8. 6. f.**

Histograma comparativo entre los valores de colesterol (**Col**) obtenidos para *D. albiventris* adaptadas a las condiciones de bioterio machos (D.al M bioterio; n=7) y hembras (D.al H bioterio; n=5) y las recién incorporadas a la colonia machos (D.al M silvestre; n=8) y hembras (D.al H silvestre; n=5) donde se puede visualizar la diferencia significativa entre grupos.

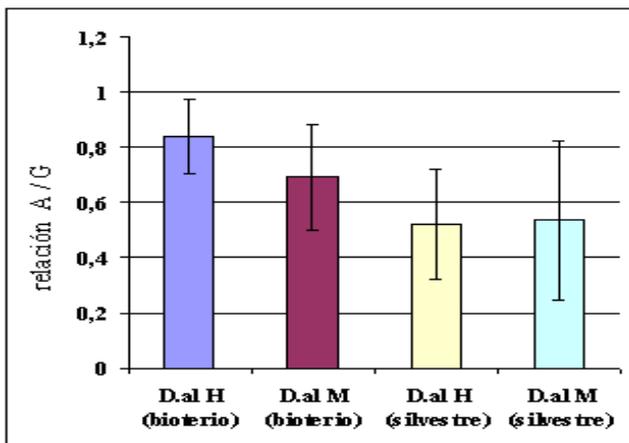
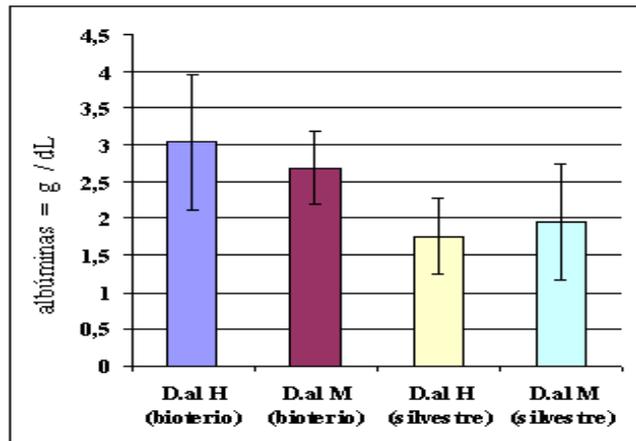


**Figuras 8. 6. g.**

Histograma comparativo entre los valores de proteínas totales séricas (**Prot**) obtenidos para *D. albiventris* adaptadas a las condiciones de bioterio machos (D.al M bioterio; n=7) y hembras (D.al H bioterio; n=5) y las recién incorporadas a la colonia machos (D.al M silvestre; n=8) y hembras (D.al H silvestre; n=5) donde se puede visualizar la diferencia significativa entre grupos.

**Figuras 8. 6. h.**

Histograma comparativo entre los valores de albúminas séricas (**Alb**) obtenidos para *D. albiventris* adaptadas a las condiciones de bioterio machos (D.al M bioterio; n=7) y hembras (D.al H bioterio; n=5) y las recién incorporadas a la colonia machos (D.al M silvestre; n=8) y hembras (D.al H silvestre; n=5) donde se puede visualizar la diferencia significativa entre grupos.



**Figuras 8. 6. i.**

Histograma comparativo entre los valores de la relación albúminas / globulinas séricas (**A/G**) obtenidos para *D. albiventris* adaptadas a las condiciones de bioterio machos (D.al M bioterio; n=7) y hembras (D.al H bioterio; n=5) y las recién incorporadas a la colonia machos (D.al M silvestre; n=8) y hembras (D.al H silvestre; n=5) donde se puede visualizar la diferencia significativa entre grupos.

### **8. 3. 2. Consideraciones finales de esta sección**

En este trabajo se ha reiterado la importancia de las de las Zarigüeyas, en particular *Didelphis albiventris* y *Lutreolina crassicaudata*, como Animales de Laboratorio.

Se ha destacado también la necesidad de obtener valores clínico-fisiológicos de referencia para su crianza en cautividad.

La asociación anestésica utilizada (tranquilizante más anestésico disociativo) resultó adecuada, tanto por su practicidad, como por su efectividad y seguridad.

El período de inducción fue de diez (10) minutos y la duración de la anestesia apta para el trabajo fue de treinta (30) minutos de promedio [ $\pm$  cinco (5) minutos]. La relajación muscular, la sedación y la analgesia fueron buenas. La recuperación se produjo a los cincuenta (50) minutos [ $\pm$  diez (10) minutos], suficiente para la maniobra de extracción. La relajación muscular y sedación fueron muy buenas, lo mismo que la analgesia.

Si bien hay antecedentes sobre anestésicos y sedantes en *D. virginiana* (oposum norteamericano) (Sherwood y col., 1969; Feldman y Self, 1971), no existe suficiente información sobre las especies autóctonas utilizadas en este trabajo. Una más amplia información sobre las drogas usadas con éxito puede consultarse en el **Capítulo 9 de Inmovilización y Anestesia**.

Cabe aclarar que algunas de las drogas utilizadas por Feldman y Self (1971) no son de uso corriente en la actualidad por lo que la mayor parte de los datos aquí presentados resultan absolutamente originales.

La técnica de toma de muestra usando la vena caudal, utilizada por Casagrande y col. (2009), no nos resultó útil ya que producía cierto grado de hemólisis en la muestra, lo que atentaba contra la confiabilidad del estudio. La extracción de sangre a través de la vena mamaria no fue probada por nosotros.

Es de destacar la baja dosis de Ketamina que utiliza Casagrande y col. (2009) en la toma de muestra sanguínea. Los mismos autores utilizan Xilacina en combinación con Ketamina, sería deseable utilizar otro tranquilizante. El procedimiento no es sumamente invasivo ni doloroso, por lo que el efecto analgésico de la Ketamina resultaría suficiente, adicionando como sedante la Acepromacina que acelera y mejora el período de inducción. Por otra parte sería deseable no usar la xilacina para la toma de muestras a fin de determinar parámetros séricos por la posible modificación de los datos en estudio. Se ha reportado variaciones en el glucagon, la glucemia, la hormona antidiurética (**HAD**) y la de crecimiento (**GH**) con el uso de Xilacina en algunas especies de laboratorio (Smith y Swindle, 1994).

Los valores sanguíneos obtenidos en este estudio resultan novedosos ya que la mayor parte de las publicaciones corresponden a la especie norteamericana (*D. virginiana*) (Timmons y Marques, 1969; Cutts y Krause, 1980).

Resultaría interesante profundizar los estudios comparativos entre los diferentes géneros y especies de esta familia *Didelphidae* tomando en consideración otras variables como la latitud hemisférica, las estrategias alimentarias, las condiciones estado silvestre o de cautiverio (reservas, zoológicos, bioterios) entre otras.,

Comparando los promedios de los valores obtenidos por García y col. (1998 a y b) y los de esta Tesis, encontramos gran similitud. Sólo se advierte una leve diferencia en el **Ht**. Es llamativa la presencia de esta diferencia dado que en ambos casos los animales pertenecían la Colonia de Marsupiales del INEUCI., sin embargo debemos destacar que fueron estudiados en épocas diferentes y no se utilizaron las mismas drogas sedantes y anestésicas.

En el caso de los valores promedios obtenidos por Casagrande y col. (2009), los valores obtenidos por nosotros para *D. albiventris* resultan bastante similares. Resalta la leve leucocitosis hallada en nuestros animales.

Los datos de Cutts y Krause (1980), si bien son de *D. virginiana*, demuestran una gran leucocitosis no hallada en nuestras especies autóctonas. Además resalta la eosinofilia puesta de manifiesto en el oposum norteamericano en oposición al relativo bajo porcentual de nuestra zarigüeya sudamericana. De todos modos no hay que olvidar que la cantidad de los glóbulos blancos en su totalidad y particularmente en sus porcentuales diferenciales son una respuesta permanente e inespecífica a las condiciones ambientales sufridas por los ejemplares en estudio.

Al analizar las comparaciones estadísticas de los datos obtenidos de nuestros ejemplares surgen algunas reflexiones. Las diferencias encontradas entre especies podrían ser atribuidas, primariamente, a características idiosincrásicas específicas. La diferencia en el **IR** puede responder a una respuesta eritropoyética circunstancial, deberían repetirse los estudios a fin de establecer si las cantidades de eritrocitos inmaduros presentes responden a una anemia previa o es la tasa estándar de reposición de la especie. Las diferencias en los valores absolutos y relativos de leucocitos, dada su generalización, puede ser característica correspondiente a cada especie. Las diferencias en los valores de **Neu**, **Mon**, y **g.r.** no responden a una causa clara sin hacer otros tipos de estudios que clarifiquen el estado de salud general poblacional de ambas especies. Cada vez que hallamos diferencias en **Eos** la primera reflexión apunta a respuestas de tipo alérgicas y/o parasitarias.

En el caso e los valores de bioquímica sanguínea, las diferencias entre especies puede ser entendida bajo los mismos parámetros que los valores hematimétricos. Los valores de **GPT**, tanto en las diferencias entre especies como entre sexos, están también relacionados con la respuesta del hígado a diferentes respuestas fisiológicas hepáticas.

La comparación entre ejemplares adaptados a las condiciones de bioterio y los recién capturados responde a las expectativas generadas. Era de esperar que las diferencias en los valores de bioquímica sanguínea sean marcadas dada la diferencia de los valores

nutricionales correspondiente a cada grupo y la continuidad en la alimentación. Los datos relacionales con los elementos celulares de la sangre también podrían corresponderse a la diferencia nutricional de los grupos y la necesidad de respuesta fisiológica de defensa a situaciones agresivas del medio por parte del grupo silvestre.

Otras variables a considerar, tanto para este como para futuros estudios comparativos, son la situación de estrés por captura, las incorrectas condiciones de mantenimiento antes de llegar al bioterio, la inadecuada alimentación en este mismo período, entre otras.

Si bien son varios los parámetros en los que se observa diferencia entre los ejemplares silvestres y los de bioterio, se destaca la enorme diferencia en los valores de amilasemia. Esta observación plantea la necesidad de un estudio más profundo que relacione estos valores llamativos con otros parámetros fisiológicos que estén conexos con la condición del estado silvestre como el hipercorticismismo como síndrome de estrés prolongado o de insuficiencia renal temporaria.

Dada las facilidades que ofrece nuestra técnica y la necesidad de estandarizar la metodología, proponemos la técnica aquí utilizada para ser adoptada por otros autores con el fin de aumentar y comparar los datos de estas especies.

Además de la importancia clínico-sanitaria, la determinación de estos valores revista una importancia filogenética y evolutiva muy especial, dada la particular ubicación de los marsupiales en la escala zoológica.

Por otro lado los valores obtenidos permiten plantear nuevas líneas de trabajo basadas en la comparación con valores de grupos animales con otras características:

- Adaptados al cautiverio de diferentes edades
- Adaptados al cautiverio y sometidos a modificaciones ambientales y/o nutricionales

A modo de resumen y como una forma de visualizar en forma rápida la enorme cantidad de datos que se han ido volcando en esta sección de la Tesis acerca de los valores sanguíneos de las Zarigüeyas, se elaboró las **Tablas 8. XXVIII. a.** y **8. XXVIII. b.** donde se comparan los datos obtenidos por los autores de referencia con respecto a los del autor de esta Tesis. Dichas tablas corresponden a los promedios (**M**) y los desvíos estándar (**DE**) de los valores de hemograma de las especies más difundidas en la investigación biomédica, discriminados por sexo y condición de cautividad (**Tabla 8. XVIII. a.**); y a los promedios (**M**) y los desvíos estándar (**DE**) de los valores de bioquímica sanguínea de las especies de

zarigüeyas más difundidas en la investigación biomédica, discriminados por sexo y condición de cautividad (**Tabla. 8. XXVIII. b.**).

Merece destacarse que la diversidad de datos hemáticos aportados en la presente Tesis resulta marcadamente completa en comparación con las referencias recopiladas de otros autores, por lo que resulta una adecuada base para iniciar el desarrollo de un **perfil sanguíneo de los animales en estudio**, tanto en lo referente a su bioquímica como a sus elementos celulares.

**Tabla 8 XXVIII. a.**

Estadística descriptiva tomando los promedios (M) y los desvíos estándar (DE) de los datos obtenido por los autores de referencia y el autor de esta Tesis de los valores de hemograma de *D. virginiana*, *D. aurita* y *D. albiventris*; discriminados por sexo y condición de cautividad.

Autores	Especie	Timmons y Marques, 1969.	Cutts y Krause, 1980.	García y col., 1998.		Casagrande y col., 2009.				Iodice, 2009.			
				<i>D. albiventris</i>		<i>D. aurita</i>		<i>D. albiventris</i>		<i>Didelephis albiventris</i>		<i>Didelephis albiventris</i>	
				Machos	Hembras	Machos	Hembras	Silvestre 87% / Zoo 13%	Machos (n=23)	Hembras (n=12)	Silvestres	Bioterio	Silvestres
Condición		<i>D. virginiana</i> Silvestres	<i>D. virginiana</i> Adulto			Machos (n=38)	Hembras (n=45)	Machos (n=23)	Hembras (n=12)	Hembras (n=5)	Machos (n=8)	Hembras (n=5)	Machos (n=7)
Hemo grama		M ± DE	M ± DE	M	M	M ± DE	M ± DE	M ± DE	M ± DE	M ± DE	M ± DE	M ± DE	M ± DE
g. r. 10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>		4,27 ± 0,52	-	-	-	4,1 ± 1,61	3,54 ± 1,13	4,15 ± 1,69	4,0 ± 1,34	2,49 ± 1,02	2,53 ± 1,08	3,81 ± 0,33	3,86 ± 0,49
Ht %		35,21 ± 5,66	-	43 / 55	45 / 50	31,22 ± 7,81	30,68 ± 7,15	27,63 ± 7,92	25,71 ± 4,6	29,8 ± 3,5	38,0 ± 4,3	32,0 ± 1,4	30,8 ± 9,3
Hb g/100 mL		11,95 ± 2,12	-	-	-	10,29 ± 3,44	9,22 ± 2,59	10,27 ± 2,76	10,17 ± 2,64	6,24 ± 1,52	7,21 ± 1,74	8,90 ± 3,92	8,88 ± 3,94
VCM		-	-	-	-	82,12 ± 24,44	90,62 ± 20,38	76,08 ± 28,71	70,82 ± 23,33	161,6 ± 54,5	191,7 ± 73,5	85,2 ± 11,1	84,6 ± 12,3
CHCM		-	-	-	-	27,0 ± 5,75	30,49 ± 6,93	38,37 ± 10,96	39,67 ± 8,8	20,6 ± 3,9	18,6 ± 3,9	25,2 ± 8,5	24,6 ± 8,1
I. R. %		-	-	-	-	-	-	-	-	2,10 ± 2,84	1,50 ± 2,63	4,40 ± 2,30	1,64 ± 2,09
g. b. 10 <sup>8</sup> /mm <sup>3</sup>		18,9 ± 4,50	18,34 ± 1,20	6,7 - 11	6,7 - 11	5,64 ± 4,62	7,23 ± 4,610	5,63 ± 5,79	6,33 ± 4,46	17,34 ± 11,38	11,13 ± 4,96	6,84 ± 0,75	7,71 ± 1,93
Neu %		34,4 ± 12,25	23,2 ± 2,3	-	-	1651 ± 2049	2215 ± 3135	2140 ± 4311	1979 ± 2778	51,6 ± 16,3	53,4 ± 17,6	48,4 ± 4,9	56,4 ± 3,8
Lin %		53,9 ± 19,10	62,1 ± 1,9	-	-	2980 ± 2341	3798 ± 2259	3111 ± 3028	3847 ± 2694	24,4 ± 6,1	26,0 ± 11,7	30,4 ± 5,2	28,6 ± 7,4
Mon %		0,6 ± 0,57	6,3 ± 2,4	-	-	226,2 ± 311,3	200,5	221,7 ± 252,0	171,5 ± 245,4	12,4 ± 10,1	17,6 ± 10,7	13,6 ± 2,6	10,6 ± 3,9
Eos %		7,3 ± 4,05	7,3 ± 2,5	-	-	749,0 ± 821,0	953,0 ± 1016,0	145,7 ± 442,5	286,0 ± 425,0	9,6 ± 7,1	3,2 ± 2,4	7,6 ± 1,7	4,4 ± 3,7

**Tabla 8. XXVIII. b.**

Estadística descriptiva tomando los promedios (M) y los desvíos estándar (DE) de los datos obtenido por los autores de referencia y el autor de esta Tesis de los valores de bioquímica sanguínea de *D. virginiana*, *D. aurita* y *D. albiventris*; discriminados por sexo y condición de cautividad.

Autores	Timmons y Marques, 1969 <i>D. virginiana</i> Silvestres	García y col., 1998.		Casagrande y col., 2009.		Casagrande y col., 2009.		Iodice, 2009.			
		<i>D. albiventris</i> Bioterio		<i>D. aurita</i> Silvestre 87% / Zoo 13%		<i>D. albiventris</i> Silvestre 97% / Zoo: 3%		<i>D. albiventris</i> Silvestres		Bioterio	
		Machos M	Hembras M	Machos (n=38) M ± DE	Hembras (n=45) M ± DE	Machos (n=23) M ± DE	Hembras (n=12) M ± DE	Hembras (n=5) M ± DE	Machos (n=8) M ± DE	Hembras (n=5) M ± DE	Machos (n=7) M ± DE
Bioquímica sanguínea	M ± DE										
Ur mg %	33,5 ± 11,6	0,48 - 0,60 g/L	0,43 - 0,60 g/L	-	-	-	33,4 ± 16,4	48,4 ± 10,7	43,0 ± 9,1	37,3 ± 17,1	
Glu mg/100 mL	112,1 ± 11,3	0,50 - 1,00 g/L	0,76 - 1,00 g/L	-	-	-	66,8 ± 17,4	75,6 ± 19,1	79,4 ± 14,5	75,8 ± 23,4	
Ca mg/100 mL	10,67 ± 0,45	8 - 10 mg/dL	8 - 10 mg/dL	-	-	-	7,48 ± 0,66	7,05 ± 0,69	7,8 ± 0,5	8,5 ± 1,2	
P mg/100 mL	6,8 ± 0,98	-	-	-	-	-	4,42 ± 0,24	4,07 ± 0,41	4,2 ± 0,6	3,8 ± 0,7	
FASA mg %	21,2 ± 7,39 King-Armstrong Units	100 - 200 U/I	200 - 250 U/I	-	-	-	87,6 ± 11,9	101,0 ± 5,5	96,8 ± 15,0	100,0 ± 16,8	
GPT U/I	-	12 - 300 U/I	14 - 340 U/I	-	-	-	15,4 ± 5,6	19,1 ± 6,2	34,8 ± 4,7	49,1 ± 6,0	
GOT U/I	>250 Karmen Units	65 - 450 U/I	30 - 450 U/I	-	-	-	39,2 ± 5,9	33,4 ± 8,9	82,8 ± 17,9	88,7 ± 23,2	
Ami U/I	-	116 - 130 U/I	116 - 130 U/I	-	-	-	131,0 ± 19,7	130,6 ± 19,4	33,4 ± 6,5	29,0 ± 6,7	
Lip mg / dL	-	-	-	-	-	-	4,94 ± 1,29	4,56 ± 0,64	5,04 ± 1,59	6,91 ± 2,50	
Trig mg / dL	-	120 - 300 mg /dL	119 - 200 mg/dL	-	-	-	4,80 ± 1,35	3,57 ± 0,71	1,38 ± 0,31	1,13 ± 0,41	
Col mg / dL	129,5 ± 19,1	122 - 300 mg/dL	122 - 200 mg/dL	-	-	-	102,0 ± 7,6	120,2 ± 14,8	139,4 ± 27,3	152,4 ± 20,1	
Fos mg / dL	-	-	-	-	-	-	1,22 ± 0,29	1,05 ± 0,30	0,98 ± 0,41	1,07 ± 0,47	
Prot. (g/dL)	6,9 ± 0,79	-	7,9 ± 1,22	7,61 ± 1,2	7,47 ± 1,18	7,59 ± 0,77	5,40 ± 0,76	5,34 ± 0,75	6,60 ± 1,57	6,69 ± 0,77	
Alb (g/dL)	0,64 ± 0,19 mg/100 mL	-	-	-	-	-	1,76 ± 0,51	1,95 ± 0,78	3,04 ± 0,92	2,69 ± 0,49	
A/G	-	-	-	-	-	-	0,522 ± 0,200	0,533 ± 0,290	0,842 ± 0,155	0,693 ± 0,191	

## **Capítulo 9:**

### **Agentes químicos para inmovilización y anestesia de Armadillos y Zarigüeyas en condiciones de bioterio.**

#### **9.1 Introducción.**

Es incuestionable que los sedantes, analgésicos y anestésicos generales deben utilizarse para el control del dolor y de la angustia de los animales, a menos que los objetivos del estudio no permitan su uso. En este caso, es indispensable obtener la aprobación del Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) correspondiente a fin de acreditar la incompatibilidad del uso de dichos fármacos con el normal desarrollo de la experiencia.

Estas drogas son de uso corriente, no sólo para efectuar procedimientos quirúrgicos, sino también como agentes de inmovilización para traslado, control o revisión de los animales.

Los agentes sedantes y anestésicos ideales deben poseer ciertas características entre las que se destacan:

- Poseer un amplio índice terapéutico (**IT**). Esto significa que la dosis tóxica y/o mortal esté alejada de la dosis de acción efectiva. Muchas veces se combinan agentes para lograr este objetivo.
- Fácil administración, la mayoría se administra intramuscularmente. No debe ser irritante ni producir necrosis del tejido.
- Es deseable que produzca un corto *periodo de inducción* (tiempo que media entre la administración de la droga y su acción efectiva) y una recuperación rápida y placentera del sujeto experimental.
- Que no provoque complicaciones secundarias, ni tenga efectos tóxicos.
- Que tenga una rápida eliminación del organismo y no produzca metabolitos intermediarios activos.
- Es deseable que posea un antídoto que revierta los efectos del fármaco (no se conocen antídotos para la gran mayoría).
- Debe ser física y químicamente estable en solución, lo que lo convierte en extemporáneo y económicamente de elección.
- Versatilidad en la concentración

- Dosis efectiva baja y/o alta concentración soportable. Esto permitirá usar bajos volúmenes de solución.
- Que sea económico.

Dada la cantidad de requisitos que se exigen, conviene recordar un viejo concepto en el uso de estas drogas:

**LOS SEDANTES Y ANESTÉSICOS "IDEALES"**

**NO EXISTEN.**

Conclusión:

**LOS "MEJORES" SEDANTES Y ANESTÉSICOS SON LOS  
QUE CONOCEMOS Y SABEMOS USAR.**

Los fármacos sedantes y anestésicos afectan frecuentemente los sistemas cardiovascular, respiratorio y termorregulador, además del sistema nervioso central (SNC). Por lo tanto, se procurará mantener dentro de los límites fisiológicos normales la circulación, la función respiratoria y la temperatura de cuerpo del sujeto anestesiado. A esto se lo denomina genéricamente: **Monitoreo anestésico.**

Los animales deberían siempre ser manejados delicadamente y con calma, para no excitarlos ni asustarlos. La excitación prolongada perturba los sistemas circulatorio y metabólico del sujeto experimental e induce un estado de shock. Además, intentar sedar o anestesiarse a un animal en este estado crea ciertos problemas físicos, e incrementa las posibilidades de una respuesta anormal a los medicamentos.

El tema del ayuno previo al procedimiento anestésico es muy discutido. Para los mamíferos muy pequeños o inmaduros, por su metabolismo más alto puede no ser necesario. En caso de juzgarlo necesario, el período de ayuno debe ser mucho más corto que lo instaurado en animales de mayor porte, generalmente entre dos a cuatro horas.

Estos conceptos generales acerca de sedación y anestesia de animales de laboratorio responden a los principios generales establecidos por el Canadian Council On Animal Care (CCAC) (1998 d y e).

Los fármacos utilizados en el desarrollo de este trabajo de Tesis son de uso corriente en medicina veterinaria. Muchos fármacos tienen, por sus características químicas, una vía de administración específica e ineludible. Por ejemplo, requieren la vía endovenosa (**IV** o **EV**) pues aplicados por vía subcutánea (**SC**) o intramuscular (**IM**)

producen necrosis tisular. Es deseable que las drogas utilizadas en los procedimientos de sedación y/o anestesia tengan una vía de administración sencilla.

En muchos casos, las drogas consideradas anestésicas usadas a dosis bajas actúan con efectos sedantes. Las dosis de éstos, como de cualquier otro fármaco, se expresan en miligramos por kilogramo de peso vivo (mg/kg pv)

Es habitual la combinación de drogas sedantes y anestésicas con otras que poseen efectos diversos con el fin de obtener una serie de beneficios:

- Disminuir la dosis de las diferentes drogas, lo que amplía el margen terapéutico.
- Mejorar la performance individual de las drogas.
- Aumentar el tiempo efectivo de acción de las mismas.
- Eliminar o minimizar los efectos indeseables de los fármacos.
- Reducir el estrés del paciente, alterado por personas y ambiente desconocido.
- Iniciar el manejo del dolor, ya que su prevención mejora la eficiencia del protocolo anestésico.
- Facilitar el manejo prequirúrgico y en la inducción.
- Bloquear los reflejos indeseables del SN neurovegetativo.
- Prevenir alteraciones secundarias relacionadas con el procedimiento farmacológico (Antiácidos, Antihistamínicos).

Estas combinaciones de fármacos se han nombrado de diferentes modos a través del tiempo, por ejemplo:

- asociación anestésica,
- premedicación,
- preanestesia, etc.

Más recientemente se optó por denominarla:

- **anestesia balanceada**

Tiene importancia enfatizar este procedimiento que viene realizándose dentro de la metodología anestésica moderna y que consiste en rodear de fenómenos agradables al sujeto anestesiado -pre, intra y posquirúrgicos- con el objetivo de hacer desaparecer o minimizar los estados de ansiedad e intolerancia a las drogas que se daban anteriormente.

Siempre que el diseño experimental lo permita, es aconsejable usar:

- **Muchas drogas a bajas dosis**
- **no Pocas drogas a altas dosis.**

## **9. 2. Drogas utilizadas.**

A continuación se detallaran brevemente las diversas drogas utilizadas en la sedación y la anestesia balanceada de los armadillos y las zarigüeyas, con un conciso resumen de sus características farmacológicas y en algunos casos los motivos de su elección.

Mas información respecto de ellas puede consultarse en: Green (1982); Lumb y Jones (1984); Flecknell (1987); Booth y McDonald (1988); Litter (1988); Paddleford (1988); Muir y Hubbell (1989); Hall y Clarke (1991); Smith y Swindle (1994).

Los fármacos tratados a continuación se pueden dividir en:

### **I. TRANQUILIZANTES**

- **MENORES,**
- **MAYORES,**

### **II. ANESTÉSICOS GENERALES**

- **DISOCIATIVOS**
- **HIPNÓTICOS**
- **ANTAGONISTAS NO ESPECÍFICOS**

### **III. AGENTES PROTECTORES**

- **PROTECTORES DEL SISTEMA  
NEUROVEGETATIVO: ANTICOLINÉRGICOS**
- **PROTECTORES GÁSTRICOS**

## **I. TRANQUILIZANTES**

Los tranquilizantes producen un efecto calmante no anestésico (Green, 1982). No tienen propiedades analgésicas, en altas dosis pueden ocasionan ataxia y depresión, sin embargo los animales se despiertan fácilmente. Los tranquilizantes son útiles porque se pueden usar en muchas especies animales, en combinación con otras drogas, para disminuir la dosis del anestésico general y producir una inducción y recuperación más placenteras. Se usan sedantes para producir somnolencia y reducir el miedo y la aprensión (Flecknell, 1987).

El estado psicológico y el grado de estrés del animal antes de la administración de los tranquilizantes pueden afectar significativamente el grado de sedación logrado.

#### **I. A. TRANQUILIZANTES MENORES:**

Son depresores no selectivos del sistema nervioso central.

Características generales:

- relajantes musculares
- no son depresores cardiacos
- leve depresión respiratoria
- pueden dar efectos paradójales

#### **❖ Diazepán:**

Junto al midazolam pertenece al grupo de las Benzodiazepinas. Producen una sedación variable, según la especie animal. Son buenos relajantes musculares, muy buenos anticonvulsivantes y no tienen efectos secundarios indeseables. Producen suave desconexión del medio y no son analgésicos.

Son muy usados. Tienen un margen terapéutico amplio. Tienen muy pocos efectos adversos. Potencian el efecto de un neurotransmisor (**GABA** = Ácido Gamma Amino Butírico).

El diazepam se comercializa solubilizado en propilenglicol, por lo que no es fácilmente miscible con soluciones acuosas. Esto resulta inconveniente cuando se lo administra combinado a otro sedante o anestésico hidrosoluble o por vía endovenosa con una vía de perfusión con soluciones parenterales. El midazolam es hidrosoluble y no presenta estos inconvenientes, pero es más caro. El propilenglicol puede producir una disminución de la frecuencia cardiorrespiratoria.

El efecto tranquilizante no es tan profundo como las fenotiacinas y las butirofenonas, pero tienen mayor margen terapéutico. Puede administrarse por vía subcutánea, intramuscular o endovenosa, en esta última debe hacerse en forma lenta por el vehículo solubilizante.

#### **I. B. TRANQUILIZANTES MAYORES O NEUROLÉPTICOS.**

Son depresores no selectivos del SNC. Sus características generales se resumen a continuación:

- Sedante no narcótico
- Analgésico visceral (tipo opioide)

- Hipotensores (por bloqueo adrenérgico)
- Hipotermizantes (por depresión centro termorregulador y por vasodilatación periférica)
- Relajante muscular central
- Bradicardicádico (con bloqueo A-V de 2do grado)
- Antiarrítmico (por efecto simpaticomimético)
- Leve efecto antihistamínico
- Depresor respiratorio. Puede potenciar el efecto de otras drogas
- Puede dar émesis en algunas especies
- Puede potenciar convulsiones
- Aumenta la duración de acción narcótica

❖ **Acepromacina:**

Junto a la promacina y a la clorpromacina pertenece al grupo de las Fenotiacinas. Produce sedación y permite reducir la dosis de los anestésicos generales, pero provoca una leve hipotensión e hipotermia.

Disminuye la excitabilidad nerviosa sin embotamiento de la conciencia ni tendencia al sueño, produciendo un estado de quietud y calma en los animales excitados o no, indiferencia al medio con disminución de la actividad motora.

Los derivados fenotiacínicos deprimen el tronco cerebral e interrumpen las conexiones entre el córtex y el **SNC**. Como su estructura tridimensional es parecido a la dopamina, compiten con ella. Tienen otras acciones, además de tranquilizante:

- Antieméticos y anticinetóticos.
- Antihistamínicos
- Protegen el miocardio de las catecolaminas liberadas por el estrés.

Presentan algunos inconvenientes como:

- Perturban los centros vasomotores dando hipotensión, que puede ser irrelevante o no según el estado de hidratación y volemia de los sujetos; puede provocar un shock hipovolémico y exponer a zonas del organismo a una presión vascular inadecuada.
- El inicio de la acción es largo (30-60 minutos). Son fármacos que se eliminan lentamente y duran mucho tiempo. Puede ser peligroso. La eliminación lenta se ve mayor en los animales más viejos.
- Pueden provocar bradicardia.

- Producen hipotermia y dificultad para regular la temperatura corporal.
- Disminuyen la sensibilidad del CO<sub>2</sub> y el riesgo de producir apneas aumenta.
- También disminuyen el umbral de ataques epileptiforme.
- Tienden a producir prolapso del tercer párpado.
- Pueden dar sintomatología extrapiramidal (temblores, rengueras...).
- Suele ser adecuado efectuar una prueba previa para establecer la dosis necesaria, dado que varía mucho la respuesta individual.

Puede ser empleada por vía subcutánea, intramuscular y endovenosa. La vía endovenosa debe ser administrada en forma muy lenta. La vía subcutánea puede ser levemente irritante.

#### ❖ **Xilacina:**

Junto a la detomidina y a la medetomidina pertenecen al grupo de los agonistas alfa-2-adrenérgicos, químicamente pertenecen al grupo de las tiazidas.

Es un sedante y analgésico que actúa como un depresor del **SNC** e induce la relajación muscular por la inhibición de la transmisión de los impulsos en el **SNC**.

No son anestésicos en el sentido estricto. Es de uso exclusivo en medicina veterinaria.

Su uso principal en la anestesia de animales de laboratorio se hace en combinación con Clorhidrato de Ketamina para producir una anestesia quirúrgica.

Ocasiona una depresión respiratoria y una bradicardia que puede progresar hacia un atraso o una interrupción de las contracciones cardíacas. Es una droga depresora cardiorrespiratoria muy potente. Suele producir apneas.

También puede aumentar la susceptibilidad del miocardio a las catecolaminas circulantes durante la anestesia con agentes inhalatorios. Puede inducir el vómito en aquellos animales que son capaces de producirlo. La leve atonía gastrointestinal que genera puede producir la acumulación de gas, una complicación posquirúrgica indeseable.

Suele ocasionar cambios fisiológicos profundos en los individuos, para poder utilizar este agente con seguridad hay que conocer bien estos efectos, que generalmente son específicos para cada especie.

Tiene un margen terapéutico estrecho. Su acción sedante es más larga que la acción analgésica

Resumen de su mecanismo de acción:

- disminuyen la neurotransmisión noradrenérgica central

- en el **SNC** tiene un efecto inhibitor presináptico de influjo de Ca y liberación de neurotransmisores resulta en sedación, disminución del tono simpático y analgésico
- la inhibición de neuronas noradrenérgicos en el *locus coeruleus* puede explicar el efecto sedante (estas neuronas son de importancia en la vigilia)

Biodisponibilidad:

- absorción rápida por vía intramuscular
- rápida metabolización
- eliminación relativamente rápida
- 70 % se elimina por orina (solo el 8 % sin metabolizar)
- da 20 metabolitos no activos

Resumen de efectos:

- en la mayoría de las especies la xilacina sola no produce sueño ni pérdida de reflejos
- reduce gasto cardiaco y puede dar arritmias
- volumen latido y presión sanguínea varía según especie
- prolongado tránsito intestinal por disminución de la motilidad gastrointestinal
- poliuria por disminución de **HAD**
- hay evidencia de efecto antinociceptivo en la médula
- produce vasoconstricción periférica

Puede ser administrada por vía subcutánea. Intramuscular o endovenosa, por esta última vía aumenta la aparición de los efectos indeseables.

## **II. ANESTÉSICOS GENERALES**

Entre las variadas definiciones de anestesia se puede decir que es la supresión total o parcial, en forma temporal, de la sensibilidad y la movilidad de los sujetos; sin comprometer las funciones vitales de los mismos, mediante la acción de fármacos aplicados según procedimientos especiales.

Dichos fármacos son depresores no selectivos del **SNC**. Además, para ser considerados como tales, deben cumplir con eficiencia tres requisitos fundamentales:

- desconexión del medio
- analgesia
- relajación muscular

A estas características se las denominó clásicamente Triada de Gray. Más recientemente se complementó con otra exigencia:

- protección del SN Neurovegetativo

Períodos de la anestesia general:

- 1. inducción** (delirio)
- 2. anestesia quirúrgica**
- 3. recuperación**
- 4. anestesia bulbar**

- 1. Periodo de inducción.** Llamado así porque comprende el comienzo de la aplicación del anestésico. Finaliza cuando se instaura la pérdida de conciencia. El sujeto puede experimentar contracciones y convulsiones, juntamente con delirios. Durante este periodo el animal puede sufrir un estado de stress con aumento de secreción de adrenalina, lo que puede determinar la aparición de hipertensión arterial, taquicardia, dilatación de pupilas (midriasis), etc. Es un periodo riesgoso del procedimiento anestésico ya que pueden surgir trastornos cardiacos importantes como fibrilación
- 2. Periodo de anestesia quirúrgica.** Es el utilizado por el cirujano para intervenir. Se puede dividir a su vez en cuatro partes o planos:
  - plano de sueño profundo,
  - plano de abolición de la sensibilidad,
  - plano de caída del tono muscular estriado,
  - plano de parálisis intercostal,
- 3. Período de recuperación.** El sujeto va revirtiendo todos los procesos que lo llevaron al plano quirúrgico en sentido inverso.
- 4. Periodo bulbar.** Es el período en que el anestésico impregna el bulbo. Se caracteriza por la parálisis respiratoria y pérdida de la modulación cardiaca. Este cuadro lleva con gran rapidez a un fallo cardiocirculatorio y respiratorio y por ende la muerte, si el individuo no es ventilado artificialmente. Esta demás aclarar que ese período es absolutamente indeseable y es consecuencia de un accidente anestésico, una respuesta idiosincrásica o una sobredosis anestésica.

## **II. A. ANESTÉSICOS GENERALES DISOCIATIVOS.**

Los anestésicos disociativos producen un estado de inmovilización química y una anestesia caracterizada por la rigidez muscular y por la disociación de la actividad cerebral frente al ambiente externo. Los ojos quedan abiertos, lo que requiere algún tipo de

protección ocular a la luz y los cuerpos extraños. Varios reflejos quedan intactos, incluyendo el reflejo laríngeo y de débilmente el parpebral, la respiración se mantiene normal. A menudo, ocurre un aumento de la frecuencia cardíaca, de la presión arterial y de la presión intracraneal. Se recomienda su combinación con un tranquilizante en la mayoría de las especies, para incrementar la analgesia y reducir el tono muscular (Green, 1982; Flecknell, 1987).

Las dos drogas más representativas de este grupo son el Clorhidrato de Ketamina y la Tiletamina. La primera es la de uso más difundido.

#### ❖ **Clorhidrato de Ketamina.**

Es el anestésico más ampliamente usado de este grupo, es barato y seguro. La Ketamina es un agente anestésico líquido no volátil que se introdujo en la práctica clínica en la década del '70.

Se usa desde entonces tanto en medicina humana como en medicina veterinaria y humana. Es una droga de uso corriente para la inducción y el mantenimiento anestésico.

La Ketamina pertenece al grupo de las ciclohexaminas y es un derivado liposoluble de la fenciclidina, sin embargo presenta buena hidrosolubilidad. Posee un peso molecular de 238 y un pK de 7.5. Está compuesta por una mezcla racémica de los enantiómeros R (-) y S (+). La S (+) Ketamina es cuatro veces más potente que el enantiómero R (-) y posee ventajas clínicas significativas, tiene mayor eficacia y menor número de efectos adversos que la mezcla racémica. Han sido reportadas diferencias farmacocinéticas y farmacodinámicas en las propiedades de ambos. La S (+)- Ketamina es un antagonista no competitivo del receptor N-metil-D-aspartato (NMDA) y representa el enantiómero levógiro de la Ketamina racémica. El S (+)- enantiómero se une al receptor NMDA con mayor avidéz que el R (-)- enantiómero produciendo un efecto hipnótico más potente. Posee un mayor índice terapéutico comparado con la mezcla racémica o el R (-)- enantiómero en dosis hipnóticas equipotentes.

La Ketamina parece deprimir selectivamente la función normal de asociación del cortex y tálamo, mientras aumenta la actividad del sistema límbico. Se sugiere un mecanismo que involucra a los receptores opiáceos por la reversión de los efectos de la Ketamina por la naloxona. También pueden estar involucrados los receptores de la serotonina, noradrenalina, y muscarínicos de la acetilcolina.

Es un problema porque siente el dolor: son buenos analgésicos superficiales, pero malos analgésicos viscerales. La profundidad de la anestesia depende de la dosis

administrada. A dosis bajas se la utiliza como sedante. Tiene un margen de seguridad muy amplio. Se pueden dar por todas las vías: subcutánea, intramuscular, endovenosa e intraperitoneal (incluso nasal y rectal y la raramente usada oral). Es un alucinógeno en dosis bajas.

Biodisponibilidad:

- alta solubilidad en lípidos
- rápida inducción y retorno a la conciencia por redistribución del **SNC** a otros tejidos
- en la mayoría de las especies se metaboliza en hígado (norKetamina: metabolito I de baja actividad)
- el 53 al 75 % se eliminan por orina y el 23 al 25 % por heces

Los efectos secundarios incluyen una fuerte salivación, que puede controlarse con atropina (Flecknell, 1987); también hay una tendencia a convulsiones en la inducción y el despertar, y una recuperación caracterizada por la excitación, desorientación y alucinaciones, que pueden ser controladas por el uso de tranquilizantes (Lumb y Jones, 1984). En todos los casos, dejando al individuo en un ambiente quieto y oscuro facilitará su recuperación.

## **II. B. ANESTÉSICOS GENERALES HIPNÓTICOS.**

Son sustancias que, según la dosis, producen desde un estado de sedación parecido al sueño hasta un estado de anestesia quirúrgica. El grupo más importante es el de los barbitúricos.

### **❖ Barbitúricos**

Los barbitúricos son productos sintéticos que derivan del ácido barbitúrico, fueron obtenidos en 1863. El primer barbitúrico introducido en terapéutica a principios de este siglo, fue el Barbital. Ya hay más de 2.500 barbitúricos sintetizados y alrededor de 50 fueron llevados al mercado para uso humano. Hoy en día, alrededor de una docena siguen siendo utilizados por la medicina humana y veterinaria.

Se presenta en forma de polvo liofilizado para diluir a concentraciones variables, según las necesidades el operador.

Los barbitúricos producen un amplio espectro de depresión del **SNC**, desde una sensación leve hasta el coma, y han sido utilizados como sedantes, hipnóticos, anestésicos, y anticonvulsivos. La principal diferencia entre muchos de estos productos, es la rapidez

con la cual producen el efecto y por cuanto tiempo persiste ese efecto. Los mismos se clasifican en acción ultra corta, corta, intermedia y prolongada.

- **Categoría I:** ultracorta (ejemplo: tiopental).
- **Categoría II:** corta (ejemplo: pentobarbital).
- **Categoría III:** mediana (ejemplo: butabarbital).
- **Categoría IV:** prolongada (ejemplo: fenobarbital).

Solo las categorías **I y II** (ultracorta y corta) se utilizan en anestesiología, el resto se utilizan como sedante orales y anticonvulsivantes entre otras aplicaciones.

La duración de la anestesia varía mucho con las especies animales. Sin embargo, en general, los barbitúricos de duración corta producen una anestesia de aproximadamente 2-3 horas, y los barbitúricos de duración ultra-corta, de 10 a 20 minutos. Sin embargo hay que ser cuidadosos pues hay variaciones extremas en la dosis/respuesta y la duración del efecto de barbitúricos dentro y entre especies (Green, 1982; Olson, 1986; McLaughlin, 1988).

Los barbitúricos difieren de otros depresores del sistema nervioso en que un incremento progresivo de la dosis aumenta la depresión, hasta alcanzar un estado de anestesia general, posterior coma y muerte. No tienen efectos analgésicos; su uso primario es la inducción y/o el mantenimiento de la anestesia general. El margen terapéutico estrecho. Los barbitúricos son potentes depresivos respiratorios y tienen efectos variables sobre el sistema cardiovascular. Cuando administrados en dosis medias, pueden ocurrir estados de agitación (Green, 1982).

Cuando sea posible, los barbitúricos deberían ser administrados por vía intravenosa, lentamente, hasta llegar al efecto deseado. Pueden ocasionar necrosis de los tejidos si se inyectan perivascularmente por accidente, como así también si se lo hace subcutáneo o intramuscular (McLaughlin, 1988).

En especies de pequeño porte o cuando no es accesible la vía endovenosa, puede ser administrado en forma intraperitoneal. En este caso deberá establecerse un equilibrio entre el volumen inoculado y la concentración del mismo, para no generar reacciones inflamatorias peritoneales. Son fármacos muy baratos. Como duran muy poco pueden ser útiles para procedimientos cortos.

Aunque los barbitúricos están ampliamente utilizados, generalmente no son una buena elección para la anestesia general, debido a su efecto analgésico débil, a las alteraciones cardiorfuncionales, a su alta mortalidad y a numerosos factores externos que pueden afectar la dosis/respuesta y el tiempo de sueño. Es aconsejable utilizarlo combinado con sedantes u otro tipo de drogas que amortigüen sus efectos indeseables y

permitan disminuir la dosis efectiva y como consecuencia aumentar el margen terapéutico (Lumb y Jones, 1984; Olson, 1986; McLaughlin, 1988).

Otros efectos indeseables:

- Sensibilizan el corazón a las descargas de catecolaminas (al contrario que los derivados fenotiacínicos que lo protegen).
- Disminuye la fuerza de contracción del corazón
- Producen apnea con facilidad.
- El despertar es muy brusco y puede autolesionarse el sujeto (otro motivo para combinarlo con un sedante).

Para efectuar su acción los barbitúricos se unen a un sitio específico en los canales iónicos sensibles al ácido gamma-aminobutírico (**GABA**) encontrados en el **SNC**, donde permiten la entrada de cloruro a las membranas celulares y, subsecuentemente, hiperpolariza la neurona postsináptica. **GABA** es el mayor neurotransmisor inhibitorio del **SNC**. Los barbitúricos producen corrientes de cloruro mediado por el **GABA** al unirse al complejo receptor **GABA** A-ionoforo e incrementando la duración de la apertura del ionoforo; los barbitúricos inhiben la despolarización neuronal al potenciar y prolongar las acciones de **GABA**. En altas dosis, los barbitúricos estimulan los receptores **GABA** A directamente en la ausencia del **GABA**. Los barbitúricos también bloquean los receptores de glutamato (neurotransmisor excitatorio) en el **SNC**.

Distribución:

- Tiene importancia el coeficiente de partición.
- Se unen a las proteínas plasmáticas
- En sangre se encuentran fundamentalmente en el plasma.
- Biotransformación:
- Producen un incremento del sistema enzimático (cantidad y actividad) del Sistema Microsomal.
- Esto a su vez incrementa la tasa metabólica de diversos fármacos y sustancias endógenas (hormonas esteroides, colesterol, sales biliares, vitaminas K y D)
- También se incrementa la tasa metabólica de los barbitúricos (tolerancia)
- Otras sustancias como etanol, sedantes, hipnóticos, anestésicos pueden originar tolerancia cruzada.
- Excreción: vía renal dependiente del pH urinario.

## **II. C. ANESTÉSICOS GENERALES: Antagonistas no específicos.**

Varios agentes tienen la capacidad de neutralizar muchos de los efectos anestésicos inyectables, mediante sus propiedades antagonistas específicas o inespecíficas:

- Yohimbina: este agente bloquea los receptores alfa-2-suprarrenales y antagoniza parcialmente los barbitúricos, la xilacina, la Ketamina, las benzodiazepinas y las fenotiazinas (Lumb y Jones, 1984; Fowler, 1986).
- Doxapram: es un estimulante respiratorio y no un agente neutralizante *per se*. Sin embargo, se ha usado para neutralizar parcialmente la depresión respiratoria producida por la anestesia con barbitúricos y Ketamina, aunque todavía se discute su mecanismo molecular/celular.
- Naloxona: es un fármaco antagonista específico de los receptores opioides. Revierte los efectos depresores de los morfínicos y el espasmo de vías biliares también por opioides. Acelera la recuperación anestésica de los sujetos bajo efectos de la Ketamina.

**III. AGENTES PROTECTORES.** Muchos fármacos que se utilizan en los procedimientos pre, intra y posquirúrgicos producen efectos indeseables en los sujetos experimentales, para ello se utilizan drogas que protegen su sistema autónomo y a toda la economía del organismo.

### **III.A. PROTECTORES DEL SISTEMA NEUROVEGETATIVO: Anticolinérgicos**

Los anticolinérgicos bloquean la estimulación parasimpática al sistema cardiopulmonar y reducen la secreción salival. Se usan en combinación con sedativos y analgésicos como pre-medicación a la anestesia general.

- ❖ **Atropina:** es el agente anticolinérgico más utilizado. Inhibe en forma competitiva los receptores colinérgicos postganglionares autonómicos en el tracto gastrointestinal, músculo liso pulmonar, glándulas exocrinas, corazón y ojos. No bloquea a la acetilcolina en la unión neuromuscular. Dentro de sus efectos se destaca la disminución de secreción bronquial y de glándulas sudoríparas. La disminución de secreciones nasales, bucales, faríngeas y bronquiales que provoca junto a su acción broncodilatadora por dilatación del músculo liso bronquial y bronquiolar, permite contrarrestar ciertos efectos indeseables producidos por algunos agentes anestésicos y sedantes.

Sin embargo, su administración de rutina es discutible, debido a la alta incidencia de disritmias cardíacas que se asocian a su uso (contracciones ventriculares prematuras y taquicardia del seno); también se sugiere que la Atropina disminuiría efectos indeseables sobre el corazón pero quedaría enmascarada la disminución de la presión sanguínea (Lumb y Jones, 1984; Flecknell, 1987). Se recomienda su uso cuando se sospeche que los procedimientos quirúrgicos superficiales o invasivos puedan generar efectos vagales sobre la estabilidad cardiorrespiratoria.

### **III.B. PROTECTORES GÁSTRICOS.**

Es sabido que algunos sedantes, anestésicos y sobretodo analgésicos modifican la natural protección estomacal, por lo que exponen a la mucosa gástrica a una mayor agresión por parte de su contenido ácido. Los protectores gástricos neutralizan o inhiben la secreción ácida del estómago aplacando este efecto secundario indeseable.

❖ **Ranitidina:** es uno de los protectores gástricos más difundidos, por su efectividad, economía y práctica administración por cualquier vía parenteral, si bien hay productos más modernos en su farmacología.

Es un inhibidor de la secreción ácida gástrica mediante el bloqueo de los receptores histamínicos y produciendo la disminución del volumen de secreción clorhídrica, la acidez y el contenido en pepsina. Inhibe de forma competitiva la unión de la histamina con el receptor **H2** de la célula parietal gástrica. No altera la motilidad gástrica, ni la secreción biliar y pancreática. Actúa tanto sobre la secreción basal como sobre la inducida por compuestos químicos o mecánicos.

### **9.3. Monitoreo Anestésico.**

Monitorear un procedimiento anestésico es de suma importancia, si bien es una verdad harto conocida, no siempre se tiene en cuenta y mantiene hoy su más plena vigencia.

No olvidar que:

**"SI BIEN LOS AVANCES EN ANESTESIOLOGÍA  
HAN DETERMINADO UN MÍNIMO PORCENTAJE DE  
MORTALIDAD,  
CADA CASO FATAL HA ESTADO 100% MUERTO".**

(Sykes, 1960).

Es de esperar que la mayor parte de los accidentes anestésicos que producen mortalidad debieran estar asociados al estado físico deteriorado o de alto riesgo del sujeto experimental. Sin embargo sorprende que ciertos estudios estadísticos indiquen que el 50% de mortalidad anestésica ocurre en pacientes cuyo estado físico no hace sospechar riesgos anestésicos. Esto hace necesaria una supervisión meticulosa del sujeto anestesiado durante los períodos pre, intra y posanestésico hasta la total recuperación.

El monitoreo del paciente permite reconocer y corregir anomalías en el procedimiento anestésico y evitar producir un daño irreparable. Un monitoreo adecuado es aquél que permite asegurar el funcionamiento apropiado de los sistemas orgánicos vitales resumido en el A-B-C, derivado del idioma inglés: A = vías aéreas B = respiración C = circulación.

El monitoreo de la respuesta al estímulo doloroso se realiza a través del control de los signos vitales. Si bien desde la aplicación de las drogas la observación debe ser casi permanente, es importante realizar estos controles cada 3 a 5 minutos una vez superado el período de inducción, a fin de evitar que un paro cardio-respiratorio produzca la muerte o un grado variable de deterioro cerebral. El nivel anestésico requerido por un paciente es aquel que cubre las necesidades del procedimiento y varía para cada caso en particular. La evaluación clínica del nivel o profundidad anestésica de un individuo se basa en la determinación de los efectos de los fármacos administrados en sus signos vitales y en la comprensión de la relación estímulo aplicado versus respuesta del paciente (Flores y Cattaneo, 2001).

Luego de superar la inducción y el estadio de excitación, el sujeto arriba al estado anestésico. No debe caerse en la sobredosificación que llevará a la muerte. El estado anestésico comprende cuatro planos de profundidad:

- Anestesia ligera
- Anestesia media
- Anestesia profunda
- Anestesia excesiva

El plano más recomendable es el de anestesia media, el plano profundo será requerido sólo en procedimientos experimentales especiales.

Se debe tener presente que un individuo se encuentre anestesiado (sin respuesta a los estímulos que le rodean) NO quiere decir que tenga una buena analgesia. Esto nos lo demostrará la respuesta simpática al estímulo quirúrgico. Si el animal registra dolor no se

moverá pero sus constantes fisiológicas automáticas se modificarán. Esto hace imprescindible el monitoreo intranestésico.

Si bien el monitoreo se realiza mediante instrumental adecuado que nos permita evaluar la actividad eléctrica cardíaca, la ventilometría, la pulsioximetría y la capnografía entre otros parámetros vitales, puede también efectuarse un control clínico manual mucho más económico.

La monitorización respiratoria puede realizarse bajo observación minuciosa de la amplitud y frecuencia respiratoria, la coloración de las mucosas aparentes y controlando el despeje de las vías aéreas superiores.

La monitorización cardíaca se puede efectuar con la observación precisa del choque cardíaco sobre la pared torácica, mediante un fonendoscopio y examinando el tiempo de llenado capilar (tiempo que tarda la mucosa bucal, por ejemplo, para retomar su color luego de presión digital)

La monitorización térmica puede cumplirse con un termómetro en posición rectal y la palpación de puntos extremos del cuerpo (miembros anteriores y posteriores, orejas y cola).

La monitorización de la profundidad anestésica se puede evaluar mediante los reflejos protectores:

- Orofaringeo (apertura de la boca, estimulación mecánica de la lengua), indica anestesia ligera a media.
- Laríngeo (deglución), indica anestesia media.
- Auricular (estimulación mecánica del pabellón, cierre del conducto auditivo), indica anestesia media.
- Podal (pellizcamiento de los pulpejos, pellizcamiento interdigital), indican anestesia media y profunda.
- Rotuliano (estimulación mecánica del ligamento rotuliano), indica anestesia excesiva.
- Oculares (palpebral, corneal, pupilar, posición del globo), indican anestesia media y profunda.

Los fármacos anestésicos favorecen la hipotermia, por lo tanto se deberá prevenir su ocurrencia, en particular en procedimientos prolongados. Una anestesia general en un mamífero que se prolongue una hora puede disminuir la temperatura corporal en 2 y 5° C, como promedio general, que puede acentuarse cuando las intervenciones quirúrgicas son

intrabdominales. Estas pérdidas de calor se atenúan con la aplicación de fuentes de calor durante el procedimiento anestésico (mantas térmicas, bolsas de agua caliente, etc.).

Debe conocerse la farmacocinética y la farmacodinamia de los agentes anestésicos para saber como afectan o modifican los parámetros vitales monitoreados, y durante cuánto tiempo (p.e.: Clorhidrato de Ketamina no afecta los reflejos protectores oculares) (Flores y Cattaneo, 2001; Universidad Autónoma de Barcelona).

## 9. 4. ARMADILLOS

Tal como se ha repetido en varios pasajes de esta Tesis, es escasa la información bibliográfica acerca del género *Chaetophractus*, sobre todo en lo referente a animales mantenidos en condiciones de bioterio. En el caso de sedantes y anestésicos, los escasos datos suelen provenir de hallazgos en animales capturados en la naturaleza para muestreo o marcado y posterior liberación en pro de estudios ecofisiológicos.

En la **Tabla 9. I.** se puede observar un resumen de las drogas, usos y dosis utilizadas para sedación y anestesia en Armadillos publicadas por diversos autores.

**Tabla 9.I.**

Resumen de datos sobre drogas, dosis y vías de administración utilizados en armadillos, por diversos autores, para sedación y anestesia.

<b>Especie</b>	<b>Drogas</b>	<b>Dosis /Vía</b>	<b>Uso</b>	<b>Autor</b>
<i>Dasyus novemcinctus</i>	Ketamina	25 mg/kg IM	Manipulación	Lord, 1977.
<i>D. novemcinctus</i>	Ketamina	25 mg/kg IM	Toma de muestras invasivas a campo	Amezcuca y col., 1978.
<i>D. novemcinctus</i>	Ketamina	25 mg/kg IM	Toma de muestras en cautividad (si es usado solo se debe tener cuidado con catatonía y movimientos)	Moore, 1983.
<i>D. novemcinctus</i>	Ketamina + Acepromacina	25 + 0.3 mg/kg IM	Muestreo de sangre a campo y en cautiverio.	Herbst y col. 1989.
<i>C. villosus</i>	Acepromacina + Ketamina	0,3 + 30 mg/kg IM	Toma de muestra sanguínea a campo.	Casanave y Polini, 1999.
<i>D. novemcinctus</i>	Ketamina + Xilacina	40 + 1.0 mg/kg IM	Examinación clínica y toma de muestras (recuperación prolongada: 2-3 hs)	Foumier-Chambrillon y col., 2000.
<i>C. villosus</i>	Ketamina + Acepromacina	29,7 + 0,59 mg/kg IM	Extracción de sangre a campo	Poljak y col., 2004.
<i>C. vellerosus</i>	Ketamina + Acepromacina	30,7 + 1,42 mg/kg IM	Extracción de sangre a campo	Poljak y col., 2004.

### 9. 4. 1. Contención química y anestesia quirúrgica en *Chaetophractus villosus*

#### ★ Contención química.

Tal como se adelantó en el **Capítulo 5: Condiciones de alojamiento**, se utilizaron distintos protocolos de drogas sedantes y anestésicas a dosis sedantes para ciertos procedimientos de manipulación que así lo requerían. Las dosis y vías de inoculación se recuerdan en la **Tabla 9.II.**

**Tabla 9.II.**

Recordatorio de drogas y dosis utilizadas para la contención química en Armadillos en la Colonia del Instituto de Neurociencia.

<b>Droga</b>	<b>Concentración</b>	<b>Dosis</b>	<b>Vía de inoculación</b>
<b>Acepromacina</b>	10 mg / mL	1 mg/Kg.	Intramuscular
<b>Clorhidrato de Ketamina</b>	50 mg / mL	25 – 30 mg/Kg.	Intramuscular
<b>Xilacina</b>	2 %	3 mg/Kg.	Intramuscular
<b>Acepromacina + C. de Ketamina</b>	10 mg / mL + 50 mg / mL	1 mg/Kg. + 20 mg/Kg.	Intramuscular
<b>Xilacina + C. de Ketamina</b>	3 % + 50 mg / mL	3 mg/Kg. + 20 mg/Kg.	Intramuscular

★ **Anestesia quirúrgica.**

Para las intervenciones quirúrgicas más complejas se utilizaron distintos tipos de sedantes y anestésicos según las características del procedimiento así lo requerían. Se ensayaron distintos protocolos acorde al grado de invasividad quirúrgica y la duración del procedimiento.

Los protocolos fueron modificándose a lo largo del tiempo en base a las observaciones realizadas y a los resultados obtenidos, así como en base a la disponibilidad de los productos anestésicos.

La mayor parte de las intervenciones realizadas en el Instituto de Neurociencia (INEUCI) han tenido como finalidad diseñar una preparación quirúrgica a fin de obtener un modelo experimental inducido para estudios neurofisiológicos.

Los animales se mantuvieron con 12 horas de ayuno previo.

La sujeción manual del animal se realizó tomándolo por su cola con una mano y por el cuello por detrás del escudete cefálico con la otra mano y se lo presenta al segundo operador para que proceda a la inoculación. Esta presentación del animal debe ser colocándolo con la cabeza levemente hacia abajo y dejando expuesta la cara ventral del animal.

La inoculación intramuscular se efectuó en la cara posterior del muslo, indistintamente izquierdo o derecho. Región muscular correspondiente a los músculos semitendinoso y semimembranoso.

La inoculación intraperitoneal se efectuó en la cara ventral abdominal, levemente paramedial izquierda y en un punto medio retroumbilical - prepúbico.

Para ambos casos se utilizó aguja tamaño 21G 1 (24 / 8)

Teniendo en cuenta la descripción clásica de los períodos de la anestesia general (Litter, 1988), se tomaron los siguientes parámetros para evaluar el plano anestésico:

- **Tiempo de inducción:** se cronometró el tiempo desde la inoculación hasta observar y constatar la relajación muscular y escasa o nula resistencia a la manipulación.
- **Plano anestésico:** se constata la analgesia y la desconexión con el medio circundante. Estos últimos parámetros se verifican mediante los reflejos defensivos al pellizcamiento en zonas sensibles del animal como la región perianal y los pliegues interdigitales (con C. de Ketamina no se usan los reflejos defensivos oculares).
- **Duración del efecto anestésico:** es el tiempo en que permanecía en el estado de sedación o de anestesia quirúrgica. Se toma como fin de dicho período cuando el animal comienza a recuperar los movimientos de respuesta defensiva y la sensibilidad al dolor.
- **Tiempo de recuperación:** tiempo que tarda en recuperar la coordinación normal de sus movimientos.

#### **9. 4. 1. 1. Protocolos anestésicos para procedimientos quirúrgicos en *Chaetophractus villosus***

A continuación se describen los diferentes protocolos anestésicos utilizados y sus aplicaciones específicas para las diferentes intervenciones quirúrgicas experimentales.

##### **❖ Protocolo A:**

<b>Droga</b>	<b>Diazepán</b>	<b>Clorhidrato de Ketamina</b>
<b>Concentración</b>	5 mg / mL	50 mg / mL
<b>Dosis</b>	1 mg/kg.	30 a 40 mg/kg.
<b>Vía de administración</b>	intramuscular (IM)	IM
<b>Características</b>	Tranquilizante y miorrelajante; se lo utiliza en medicina veterinaria también como anticonvulsivante;	Anestésico inyectable, general, disociativo, no barbitúrico, de acción rápida ya descrito;

El C. de Ketamina y el Diazepán se administraron en la misma jeringa en el miembro posterior derecho.

Este protocolo se utilizó para las siguientes intervenciones neuroquirúrgicas:

- Colocación de electrodos superficiales permanentes para registro de la actividad bioeléctrica cerebral

❖ **Protocolo B:**

<b>Droga</b>	<b>Diazepán</b>	<b>Clorhidrato de Ketamina</b>	<b>Tiopental sódico</b>
<b>Concentración</b>	5 mg / mL	50 mg / mL	Concentración variable
<b>Dosis</b>	1 mg/kg.	30 a 40 mg/kg.	40 a 60 mg/kg.
<b>Vía de administración</b>	IM	IM	intraperitoneal (IP)
<b>Características</b>	Tranquilizante y miorrelajante; se lo utiliza en medicina veterinaria también como anticonvulsivante;	Anestésico inyectable, general, disociativo, no barbitúrico, de acción rápida ya descrito;	Anestésico barbitúrico de acción ultracorta (Howie y Smith, 1994);

El C. de Ketamina y el Diazepán se administraron en la misma jeringa en el miembro posterior derecho.

Este protocolo se utilizó para las siguientes intervenciones neuroquirúrgicas:

- Colocación de electrodos superficiales permanentes para registro de la actividad bioeléctrica cerebral.
- Bulbectomía.
- Sección transversal de pedúnculo olfatorio

❖ **Protocolo C:**

<b>Droga</b>	<b>Atropina</b>	<b>Diazepán</b>	<b>Xilacina</b>	<b>Clorhidrato de Ketamina</b>
<b>Concentración</b>	1 ‰	5 mg / mL	2 ‰	50 mg / mL
<b>Dosis</b>	0,1 a 0,08 mg/kg.	0,5 mg/kg.	3 mg/kg	60 mg/kg
<b>Vía de administración</b>	IM	IM	IM	IM
<b>Características</b>	Anticolinérgico, bloquea la estimulación parasimpática al sistema cardiopulmonar.	Tranquilizante y miorrelajante.	Neuroléptico, muy buen analgésico.	Anestésico inyectable, general, disociativo, no barbitúrico, de acción rápida ya descrito.

La Atropina y el Diazepán se administraron en la misma jeringa en uno de los miembros posteriores. El C. de Ketamina y la Xilacina se administraron en la misma jeringa en el otro miembro posterior, para no superar el volumen sugerido por inoculación en un solo punto (CCAC, 1998 e).

Este protocolo se utilizó para las siguientes intervenciones neuroquirúrgicas:

- Colocación de electrodos superficiales permanentes para registro de la actividad bioeléctrica cerebral.
- Bulbectomía.
- Sección transversal de pedúnculo olfatorio.
- Sección de comisura anterior.
- Extirpación del órgano vomeronasal.

❖ **Protocolo D:**

<b>Droga</b>	<b>Atropina</b>	<b>Acepromacina</b>	<b>Clorhidrato de Ketamina</b>
<b>Concentración</b>	1 ‰	10 mg / mL	30 mg / mL
<b>Dosis</b>	0,1 mg/kg.	1 mg/kg	30 mg/kg
<b>Vía de administración</b>	IM	IM	IM
<b>Características</b>	Anticolinérgico, bloquea la estimulación parasimpática al sistema cardiopulmonar.	Tranquilizante mayor, neuroléptico, disminuye la excitabilidad nerviosa con indiferencia al medio y disminución de la actividad motora.	Anestésico inyectable, general, disociativo, no barbitúrico, de acción rápida ya descripto.

La Atropina, la Acepromacina y el C. de Ketamina se administraron en la misma jeringa en el miembro posterior derecho.

Este protocolo se utilizó para:

- punción intracardíaca para extracción de sangre.

❖ **Protocolo E:**

<b>Droga</b>	<b>Atropina</b>	<b>Diazepán</b>	<b>Clorhidrato de Ketamina</b>	<b>Tiopental sódico</b>
<b>Concentración</b>	1 ‰	5 mg / ml	50 mg / ml	Concentración variable
<b>Dosis</b>	0,5 ml total	1 mg/kg.	40 mg/kg.	40 mg/kg.
<b>Vía de administración</b>	IM	IM	IM	intraperitoneal (IP)
<b>Características</b>	Anticolinérgico, bloquea la estimulación parasimpática al sistema cardiopulmonar.	Tranquilizante y miorrelajante; se lo utiliza en medicina veterinaria también como anticonvulsivante.	Anestésico inyectable, general, disociativo, no barbitúrico, de acción rápida ya descripto.	Anestésico barbitúrico de acción ultracorta (Howie y Smith, 1994).

Este protocolo se utilizó para:

- Extirpación del Ganglio Cervical Anterior (Gangliectomía cervical anterior).

❖ **Protocolo F:**

<b>Droga</b>	<b>Atropina</b>	<b>Diazepán</b>	<b>Xilacina</b>	<b>Clorhidrato de Ketamina</b>
<b>Concentración</b>	1 ‰	5 mg / ml	2 %	50 mg / ml
<b>Dosis</b>	0,5 ml total	1 ml total	3 mg/kg	60 mg/kg
<b>Vía de administración</b>	IM	IM	IM	IM
<b>Características</b>	Anticolinérgico, bloquea la estimulación parasimpática al sistema cardiopulmonar.	Tranquilizante y miorrelajante.	Neuroléptico, muy buen analgésico.	Anestésico inyectable, general, disociativo, no barbitúrico, de acción rápida ya descripto.

Este protocolo se utilizó para:

- Extirpación de la Glándula de Harder (Harderectomía).

**9. 4. 1. 2. Resultados.**

- ❖ Las consideraciones acerca de las dosis utilizadas en la contención y manipulación de los animales fueron realizadas en el **Capítulo 5: Condiciones de alojamiento**

❖ **Protocolo A:**

Produjo una anestesia superficial. El tiempo de inducción fue de aproximadamente 8 a 10 minutos. Se observaron movimientos estereotipados de incoordinación motora estática y dinámica y movimientos tónicos. El efecto anestésico fue breve, de aproximadamente media hora, con un efecto de sedación más prolongado.

El uso de la Ketamina se ha difundido notablemente en la actualidad por presentar la ventaja de permitir la administración IM, vía que, a veces, es la única abordable sobre todo en especies no domésticas. Además, al tratarse de un anestésico disociativo más que depresor del SNC, presenta un amplio margen de seguridad, siendo poco común los accidentes cardio-respiratorios (Howie y Smith, 1994).

❖ **Protocolo B:**

Produjo una anestesia profunda. El tiopental sódico tiene un efecto anestésico, con escasa analgesia visceral y buena relajación muscular, pudiendo el animal reaccionar en forma refleja a estímulos dolorosos, pero sin despertar. Siendo el tiopental un anestésico de

acción ultracorta, es poco confiable para procedimientos quirúrgicos prolongados. Por lo antedicho se lo administró junto a C. de Ketamina y Diazepán.

Esta asociación anestésica disminuyó el período de inducción entre 5 y 8 minutos. Prolongó el tiempo del plano quirúrgico hasta aproximadamente 1,5 a 2 hs. La duración de la fase de recuperación fue de aproximadamente 12 hs.

A los 30 minutos de administrada la combinación Diazepán + C. de Ketamina + Tiopental se constató una temperatura rectal de  $35^{\circ}\pm 0,5^{\circ}$  C (temperatura ambiente =  $25^{\circ}$  C) y 14 ciclos ventilatorios/min. La frecuencia cardíaca fluctuó alrededor de los 190 lat/min.

#### ❖ **Protocolo C:**

Se introdujo en este protocolo el uso de Atropina y Xilacina, y se suprimió el uso del Tiopental. Se adoptó esta decisión a fin de evitar los trastornos de excitación vagal, profundizar la analgesia, disminuir las complicaciones cardiorrespiratorias y prolongar el efecto anestésico. Se tuvo en consideración las acciones indeseables del tiopental para el corazón y la pobre analgesia y las bondades en neuroprotección de la Atropina.

Esta asociación anestésica produjo una inducción de 5 y 8 minutos. Prolongó el tiempo del plano quirúrgico hasta aproximadamente 2,5 a 3 hs. La duración de la fase de recuperación fue de aproximadamente 12 horas (+/- 2 horas).

Los valores de temperatura, frecuencia respiratoria y frecuencia cardíaca no difirieron de los obtenidos con el **Protocolo B**.

El tiempo de recuperación fue difícil de evaluar, ya que la tradicional evaluación de la reincorporación del animal al colocarlo en decúbito dorsal, resultó compleja realizarla en el peludo durante tiempos prolongados dado su conspicuo mecanismo conductual de termorregulación.

#### ❖ **Protocolo D:**

Esta asociación buscó obtener una buena relajación muscular para un procedimiento de muy corta duración. Se obtuvo una inducción muy corta, de 3 a 5 minutos, un tiempo de acción quirúrgica de 30 +/- 8 minutos. Se logró disminuir la dosis del anestésico con buen efecto analgésico. La Atropina tuvo por objeto la protección cardíaca frente a la injuria mecánica. La recuperación se produjo en 30 (+/- 6 minutos).

❖ **Protocolo E:**

Este protocolo se diseñó para obtener una anestesia de acción prolongada para intervenciones quirúrgicas de duración incierta.

Esta asociación anestésica produjo una inducción de 5 y 8 minutos. Prolongó el tiempo del plano quirúrgico hasta aproximadamente 3 horas (+/- 30 minutos). La duración de la fase de recuperación fue de aproximadamente 12 a 14 hs.

❖ **Protocolo F:**

Este protocolo también se diseñó para obtener una anestesia de acción prolongada para intervenciones quirúrgicas de duración incierta.

Se buscó evitar los trastornos de excitación vagal, profundizar la analgesia, disminuir las complicaciones cardiorrespiratorias y prolongar el efecto anestésico. Se tuvo en consideración las acciones indeseables del tiopental para el corazón y la analgesia profunda.

Esta asociación anestésica produjo una inducción de 5 y 8 minutos. Prolongó el tiempo del plano quirúrgico hasta aproximadamente 3 horas (+/- 30 minutos). La duración de la fase de recuperación fue de aproximadamente 12 horas.

**9. 4. 1. 3. Consideraciones finales de esta sección.**

La dosis de C. de Ketamina puede considerarse alta si se tiene en cuenta la dosis de 10-20 mg/kg (IM) utilizada en la mayor parte especies mamíferas de tamaño comparable (Langrehr y Müller, 1967).

La combinación Diazepán + C. de Ketamina es recomendable para manipulaciones ó intervenciones quirúrgicas poco cruentas y de corta duración.

Dada la prolongada duración del efecto sedante y analgésico y la buena relajación muscular de la combinación Diazepán + C. de Ketamina + Tiopental resulta de elección para intervenciones quirúrgicas mayores, más cruentas y de más prolongadas.

El uso del Tiopental mejoró la duración efectiva del plano quirúrgico pero aumentó el tiempo de recuperación.

El uso de Xilacina en lugar del Tiopental y el aumento de la dosis de C. de Ketamina mejoraron el plano de analgesia y se obtuvo una disminución del tiempo de recuperación para una anestesia de larga duración.

En los procedimientos quirúrgicos más recientes se ha desistido del uso del Tiopental debido a los riesgos cardíacos que algunos autores citados anteriormente han reportado.

En la **Tabla 9. III.** se resumen los resultados de los protocolos utilizados para sedación y anestesia de Armadillos.

**Tabla 9. III.**

Resumen de los resultados de los protocolos usados para sedación y anestesia de Armadillos.

Protocolo	A	B	C	D	E	F
<b>Asociación</b> <b>Dosis</b> <b>V. a.</b>	Diacepán 1 mg/kg. IM + Ketamina 30 a 40 mg/kg. IM	Diazepán 1 mg/kg IM + Ketamina 30 a 40 mg/kg. IM + Tiopental 40 a 60 mg/kg. IP	Atropina 0,1 a 0,08 mg/kg. IM + Diazepán 0,5 mg/kg. IM + Xilacina 3 mg/kg IM + Ketamina 60 mg/kg IM	Atropina 0,1 mg/kg. IM + Acepromacina 1mg/kg IM + Ketamina 30 mg/kg IM	Atropina 1 mL total IM + Diazepán 1 mg/kg. IM + Ketamina 40 mg/kg IM. + Tiopental 40 mg/kg IP	Atropina 1 mL total IM + Diazepán 1 mL total IM + Xilacina 3 mg/kg IM + Ketamin 60 mg/kg IM
<b>TI</b>	8 – 10 minutos	5 – 8 minutos	5 – 8 minutos	3 – 5 minutos	5 – 8 minutos	5 -8 minutos
<b>TPQ</b>	30 minutos	1,5 – 2 horas	2,5 – 3 horas	30 minutos	3 horas (aprox.)	3 horas (aprox.)
<b>TR</b>	variable	12 horas (aprox.)	12 horas (aprox.)	30 minutos	12 – 14 horas	12 horas (aprox.)
<b>Usos</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Colocación de electrodos superficiales permanentes</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Colocación de electrodos superficiales permanentes</li> <li>• Bulbectomía</li> <li>• Sección de pedúnculo olfatorio</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Colocación de electrodos superficiales permanentes</li> <li>• Bulbectomía</li> <li>• Sección de pedúnculo olfatorio</li> <li>• Sección de comisura anterior</li> <li>• Extirpación del órgano vomeronasal</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Punción intracardiaca</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Gangliectomía cervical anterior</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Harderec-tomía</li> </ul>

V.a.: vías de administración.  
TI: tiempo de inducción  
TPQ: tiempo de plano quirúrgico

TR: tiempo de recuperación  
IM: intramuscular  
IP: intraperitoneal

El monitoreo clínico manual realizado durante el desarrollo de todos los protocolos anestésicos no evidenció riesgos en los parámetros fisiológicos de referencia.

Es de resaltar la simpleza casi artesanal del equipo usado en la monitorización de este Estudio Preliminar. Lo que demuestra que puede realizarse un control simple y seguro del proceso anestésico sin necesidad de un sofisticado instrumental biológico.

Las drogas y combinaciones utilizadas resultan difíciles de comparar con los resultados de otros autores, dado que la mayor parte han sido utilizadas para maniobras de manipulación y toma de muestras, y no para procedimientos quirúrgicos como es el caso de la mayoría de los protocolos propuestos en esta Tesis. Además, gran parte de los datos reportados pertenecen a otro género de animales.

## 9. 5. ZARIGÜEYAS

Los marsupiales americanos, especialmente los del género *Didelphis*, han probado ser excelentes modelos para las más diversas investigaciones biomédicas (Krupp y Quillin, 1964; Sherwood y col., 1969; Jurgelski, 1979; Iodice, 1988). Esto los ha llevado a que sean considerados ya como Animales de Laboratorio No Tradicionales (ALNT).

En nuestro laboratorio se han realizando diversos trabajos con el fin de consolidar la adaptación de dos marsupiales americanos (*D. albiventris*, zarigüeya overa o picaza y *L. crassicaudata*, coligrueso o zarigüeya colorada) a las condiciones de bioterio. Dichos estudios han sido descriptos en diversas oportunidades (Iodice y col. 1985; Iodice y col. 1986 a; Iodice, 1987; Iodice y col. 1988 a; Iodice y col. 2007).

Frecuentemente, la manipulación rutinaria de estos ALNT requiere de la utilización de drogas tranquilizantes y anestésicas de uso corriente y del conocimiento de su acción fisiológica con el objeto de preservar la seguridad del animal y del investigador.

En la **Tabla 9. IV.** se puede observar un resumen de las drogas, usos y dosis utilizadas para sedación y anestesia en Zarigüeyas publicadas por diversos autores.

**Tabla 9.IV.**

Resumen de datos sobre drogas, dosis y vías de administración utilizados por diversos autores en zarigüeyas para sedación y anestesia.

Especie	Drogas	Dosis Vía	Uso	Autor
<i>D. virginiana</i>	Zolazepan	15 o 30 mk/kg	Punción cardíaca	Stoskopf y col., 1999
<i>D. virginiana</i>	Medetomidina + Butorfanol + Ketamina	100 mg/kg + 0,2 mg/kg + 10 mg/kg	Punción cardíaca	Stoskopf y col., 1999
<i>D. virginiana</i>	Ketamina	20 a 25 mg / kg. IM	(sin datos)	Feldman y Self, 1971
<i>D. virginiana</i>	Fenciclidina	5 IM	(sin datos)	Feldman y Self, 1971
<i>D. virginiana</i>	Ketamina + Xilacina + Atropina	10 mg / kg IM + 2 mg / kg IM + 0,4 mg / kg IM	Inducción para anestesia inhalatoria	Scott y Kolata, 1982
<i>D. virginiana</i>	Halotano + Oxígeno		Anestesia general inhalatoria.	Scott y Kolata, 1982
<i>D. virginiana</i>	Ketamina + Xilacina	9 mg / kg IM + 4,5 mg/kg IM	Manipulación.	Biólogos a campo (citado por Stoskopf y col., 1999).
<i>D. albiventris</i>	Ketamina + Acepromacina	24 mg/kg IM + 2,4 mg/kg IM	Toma de muestras para estudios parasitológicos	Perez Carusi, 2006
<i>D. virginiana</i>	Ketamina	30 mg/kg IM	Extracción de sangre	Moore, 1984

La información existente a este respecto en marsupiales americanos se refiere casi exclusivamente a la zarigüeya norteamericana *Didelphis virginiana* (Feldman y Self, 1971) mientras que son sumamente escasos los datos referentes a las especies de zarigüeyas autóctonas, en particular *D. albiventris* y menos aún en *L. crassicaudata*. Los antecedentes disponibles al respecto se refieren a procedimientos sedantes y anestésicos utilizados a campo para muestreo. Existe un vacío de información de procedimientos sedantes y anestésicos para procedimientos en laboratorio con el fin de realizar intervenciones quirúrgicas experimentales.

Tal como se ha repetido en varios pasajes de esta Tesis, es escasa la información bibliográfica acerca de *Didelphis albiventris* en condiciones de Bioterio. Menores aún son las referencias sobre *Lutreolina crassicaudata* y dado que el mayor caudal informativo se observa en la especie *D. virginiana*, muy estudiada y utilizada en EE.UU.; resultaba imprescindible elaborar una estrategia de investigación que nos aproximara al establecimiento de protocolos anestésicos confiables para las intervenciones quirúrgicas realizadas en el INEUCI.

En una primera parte se describe un estudio preliminar para la utilización de drogas anestésicas y sedantes en *D. albiventris* y *L. crassicaudata* (*Marsupialia, Didelphidae*), y algunas características de su acción fisiológica.

En una segunda parte se describen algunos protocolos anestésicos utilizados en el Instituto de Neurociencia para la realización de intervenciones quirúrgicas en *D. albiventris* y *L. crassicaudata* en base a los datos obtenidos en el estudio preliminar.

#### **9. 5. 1. Estudio preliminar de sedación y anestesia en *Didelphis albiventris* (zarigüeya overa o picaza) y *Lutreolina crassicaudata* (zarigüeya colorada).**<sup>14</sup>

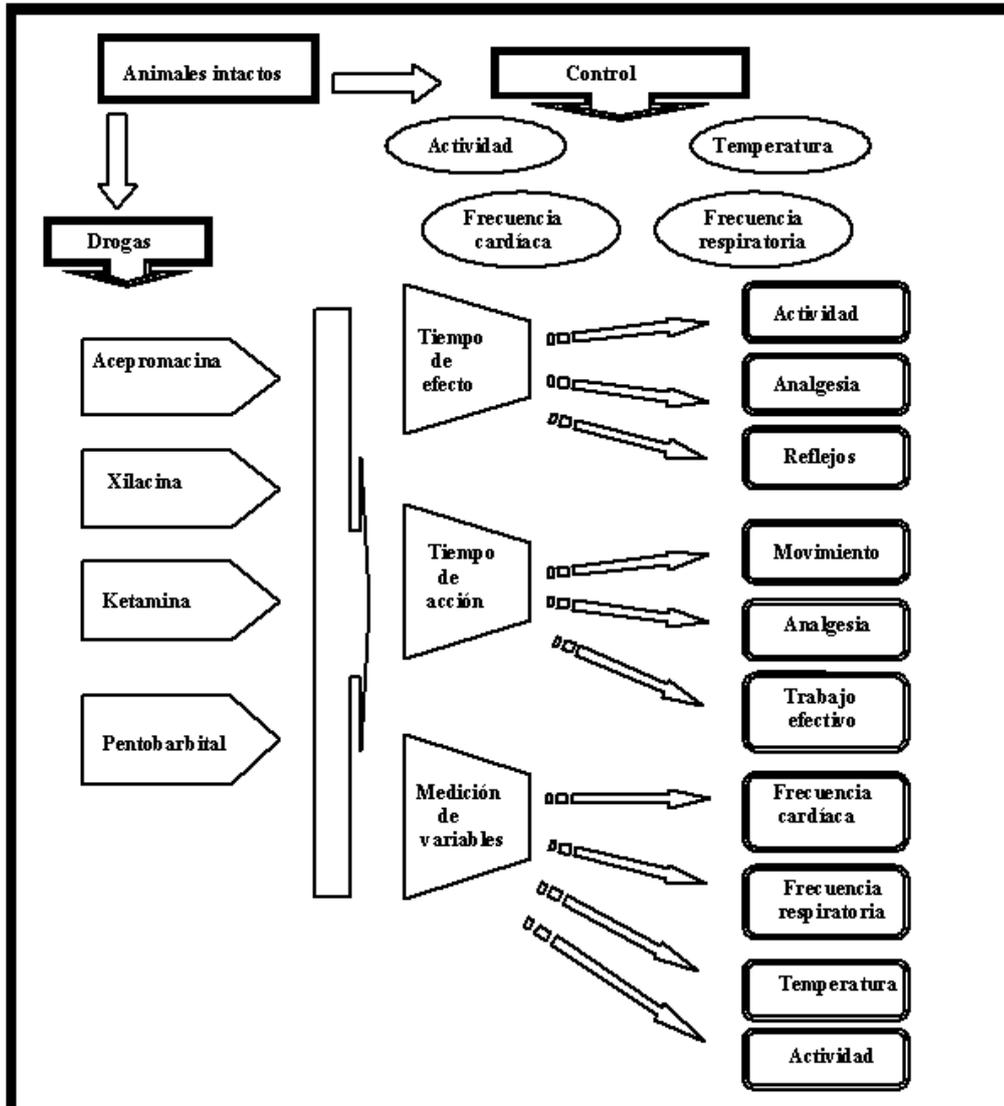
Los objetivos de este estudio preliminar se pueden resumir en:

- a. Aplicar a los ALNT *D. albiventris* y *L. crassicaudata* tranquilizantes y anestésicos de uso corriente en medicina veterinaria;
- b. Establecer los distintos períodos y eficacia anestésica de dichos fármacos;
- c. Determinar parámetros clínico-fisiológicos de referencia de estos marsupiales bajo la acción de los productos antedichos.

---

<sup>14</sup> Parte de la información que se vuelca a continuación fue presentada como "Anestesia y sedación de dos marsupiales americanos (*Didelphidae*): *Didelphis albiventris* y *Lutreolina crassicaudata* bajo condiciones de laboratorio." *Iodice* y col. 1988 b. XVI Congreso de la Asociación Latinoamericana de Ciencias Fisiológicas.

En la **Figura 9. 1.** se esquematiza el diagrama de flujo utilizado para esta experiencia.



**Figura 9. 1.**  
Diagrama de Flujo del Estudio Preliminar de Sedación y Anestesia en *D. albiventris* y *L. crassicaudata*.

Se utilizaron ejemplares de *D. albiventris* y *L. crassicaudata* pertenecientes a la Colonia de Armadillos y Marsupiales del Instituto de Neurociencia.

➤ **Condiciones de mantenimiento:**

El detalle de las condiciones de mantenimiento de los animales en la Colonia ya fue descrito (Iodice, 1987; Iodice y Affanni, 1988 a; Iodice y col. 1988 b; Iodice y col., 2007) y pueden consultarse los detalles en el **Capítulo 5: Condiciones de alojamiento**, de esta

Tesis. Las mismas se resumen en la **Tabla 9.V**. Los animales se mantuvieron con 12 horas de ayuno previo.

**Tabla 9.V.**

Resumen de las condiciones de alojamiento de los ejemplares de *D. albiventris* utilizados en el estudio sobre anestésicos.

<b>Iluminación</b>	Natural o L : O = 14 : 10
<b>Temperatura</b>	No menor a 20 ° C
<b>Jaulas</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Jaulas individuales de mampostería.</li><li>• Baterías de reproducción.</li><li>• Jaulas de semicautividad.</li><li>• Jaulas de alambre</li></ul>
<b>Alimentación</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Alimento balanceado para caninos calidad Premium</li><li>• No más de 200 gr. por día por animal</li></ul>
<b>Agua</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• <i>ad-libitum</i>.</li></ul>

Las experiencias se realizaron en las instalaciones del Bioterio (INEUCI – CONICET - FCEyN, UBA) y en los laboratorios de Fisiología Animal Comparada (FCEyN, UBA). Los registros se efectuaron mediante polígrafo San-Ei y Berger, mediante transductores apropiados.

➤ **Manipulación:**

La sujeción manual del animal se realizó con guantes y bastón intermediario tal como fue descrito en el **Capítulo 5: condiciones de alojamiento (Figura 5.13)**. Una vez que se lo ha tomado por la cola y el cuello, se lo presenta al segundo operador, para que proceda a la inoculación.

La inoculación intramuscular se efectuó en la cara posterior del muslo, indistintamente izquierdo o derecho. Región muscular correspondiente a los músculos semitendinoso y semimembranoso.

La inoculación intraperitoneal se efectuó en la cara ventral abdominal, levemente paramedial izquierda y en un punto medio retroumbilical - prepúbico.

Para ambos casos se utilizó aguja tamaño 21G 1 (24 / 8)

➤ **Drogas utilizadas:**

Se utilizaron drogas de uso rutinario y fácil adquisición comercial en el ámbito de la medicina veterinaria y pueden observarse junto a sus dosis y vías de administración en la **Tabla 9. VI**. Las características farmacológicas de las mismas fueron descriptas

precedentemente en este mismo **Capítulo 9** (para una descripción más amplia consultar: Booth y Mac Donald (1988) o Canadian Council on Animal Care (CCAC) (1988 e).

**Tabla 9.VI.**

Drogas utilizadas en *D. albiventris* y *L. crassicaudata* para el ensayo de sedación y anestesia.

<b>Droga</b>	<b>Dosis</b>	<b>Via de inoculación</b>
<b>Acepromacina + C. de Ketamina</b>	1 mg/kg pv + 25 mg/kg pv.	intramuscular
<b>C. de Ketamina</b>	30 mg/kg pv.	intramuscular
<b>Pentobarbital sódico</b>	60 mg/kg pv.	intrapitoneal
<b>Xilacina</b>	3 mg/kg pv.	intramuscular

➤ **Registro de Parámetros Fisiológicos**

1. Electrocardiografía:

La transducción se realizó mediante electrodos subcutáneos colocados en los miembros anteriores y posterior izquierdo de acuerdo al sistema de derivaciones electrocardiográficas de Einthoven. La derivación utilizada fue DII.

2. Neumografía:

Se utilizó un transductor fabricado *ad-hoc*. El cuerpo del mismo está construido por un tubo hueco de Silastix, por el que corre internamente un cilindro de polvo de grafito, cuyos extremos están conectados a un puente de Wheastone. Dado que el dispositivo descrito se comporta como una resistencia variable, si se coloca sobre la zona de los músculos abdominales, a medida que varía la longitud del transductor, se establece una diferencia de potencial que es amplificada, y luego procesada por el aparato de registro.

3. Electroencefalografía:

Se utilizaron electrodos de contacto superficiales, conectados mediante pasta conductora en distintas regiones de los hemisferios cerebrales. Los resultados se graficaron y analizaron los espectros de potencia correspondientes, pero el método probó no ser óptimo, debiendo desarrollarse una implantación crónica, de electrodos, la que modificaría los otros patrones estudiados.

➤ **Controles:**

Los datos control de las variaciones fueron tomados de la misma manera que en los animales bajo efectos anestésicos. Sin embargo, estas técnicas no fueron satisfactorias, ya que la respuesta del animal varía notablemente debido a las modificaciones comportamentales del animal.

### 9. 5. 1. 1. Resultados.

El resumen de los resultados obtenidos puede verse en la **Tabla 9. VII.** y en las **Figuras 9. 2. a, b, c, d.**

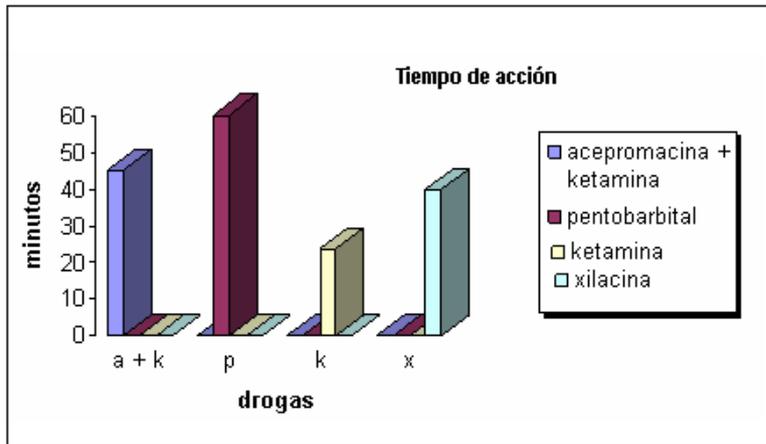
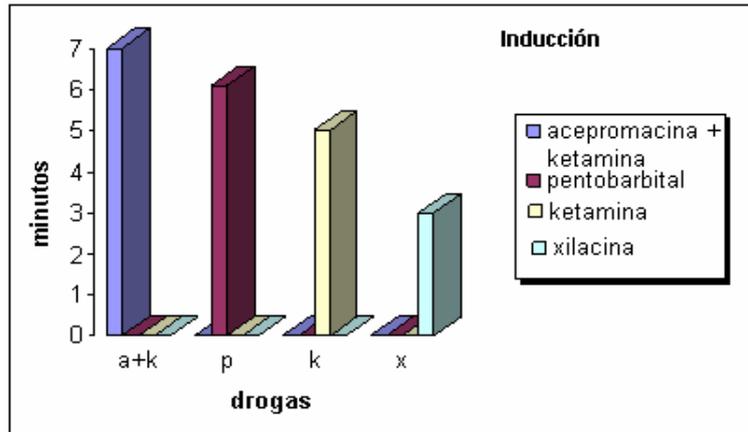
**Tabla 9. VII.**

Resumen de las drogas utilizadas en *D. albiventris* y *L. crassicaudata* para el ensayo de sedación y anestesia con sus dosis, vías, efectos y comentarios.

<b>Droga</b>	<b>Ketamina</b>	<b>Xilacina</b>	<b>Pentobarbital sódico</b>	<b>Acepromacina + Ketamina</b>
<b>Dosis</b>	30 mg/kg	3 mg/kg	60 mg/kg	1 mg/kg + 25 mg/kg
<b>Vía</b>	Intramuscular	Intramuscular	Intraperitoneal	Intramuscular
<b>Tiempo de inducción</b>	5 minutos	Sedación casi inmediata	5 a 10 minutos.	5 – 10 minutos
<b>Tiempo de acción (*)</b>	25 minutos	40 minutos	60 minutos.	45 minutos
<b>Analgesia</b>	Buena	Muy buena	Regular a buena	Buena
<b>Relajación muscular</b>	Buena	Regular a buena	Excelente A los 60': buena	Muy buena
<b>Reflejos de defensa</b>	Disminuidos.	Disminuidos.	Abolidos. 60': refleja comeal leve.	Oculares no abolidos. Podales abolidos.
<b>Comentarios</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 1': incoordinación</li> <li>• 5': cae y se levanta repetidas veces, lamido constante e intensos en manos y patas.</li> <li>• 10': no responde a estímulos auditivos, lamidos, estomudos.</li> <li>• 15': relajación muscular leve, actividad disminuida, sin analgesia.</li> <li>• 20': relajación muscular total.</li> <li>• 40': actividad disminuida.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• optima acción sedativa</li> <li>• fácil manipulación</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Analgesia y relajación muscular excelente.</li> <li>• 90': estomudos y suaves temblores.</li> <li>• Recuperación total en 6 horas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 5': estomudos, cae de lado.</li> <li>• 10': relajación muscular muy buena, analgesia regular, exteriorización del pene.</li> <li>• 20': respuesta a dolor sostenido nula.</li> <li>• 35' movimientos espontáneos aislados.</li> <li>• 50': conciencia deprimida, incoordinación, alucinaciones.</li> <li>• 60': reflejos normales.</li> </ul>

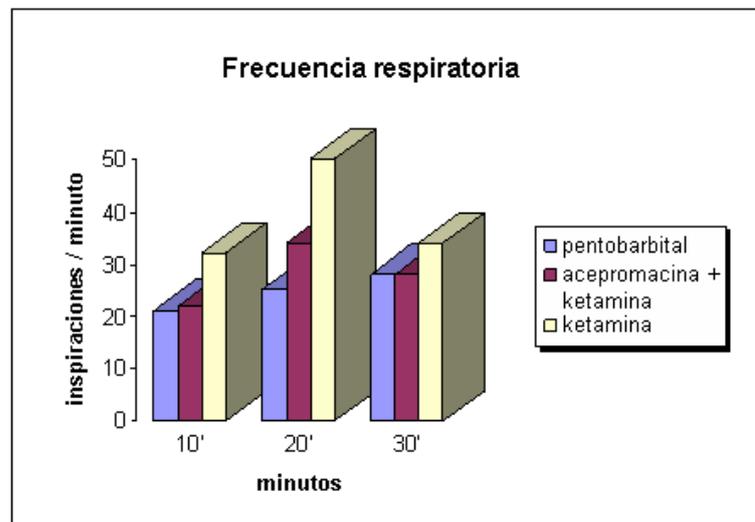
(\*) Para trabajo efectivo.

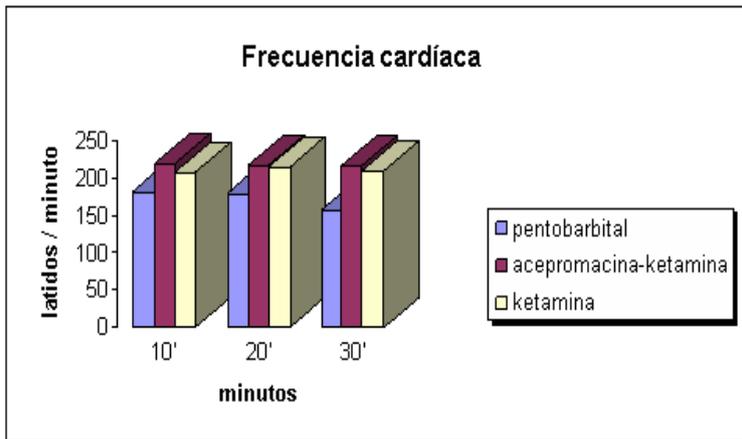
**Figura 9. 2. a.**  
Tiempo de inducción de las distintas drogas expresado en minutos.



**Figura 9. 2. b.**  
Tiempo de acción de las distintas drogas expresado en minutos.

**Figura 9. 2 c.**  
Evolución de la frecuencia respiratoria (Y) en diferentes lapsos (X) utilizando distintas drogas.





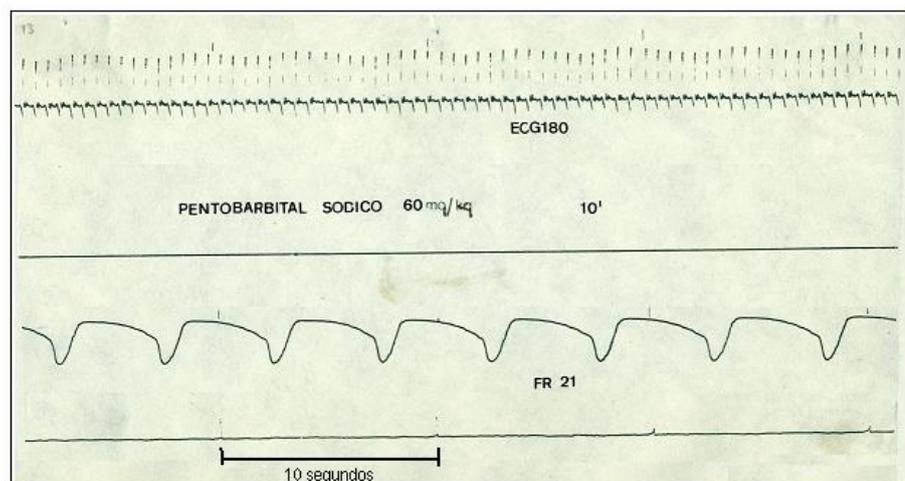
**Figura 9. 2. d.**  
Evolución de la frecuencia cardíaca (Y) en diferentes lapsos (X) utilizando distintas drogas.

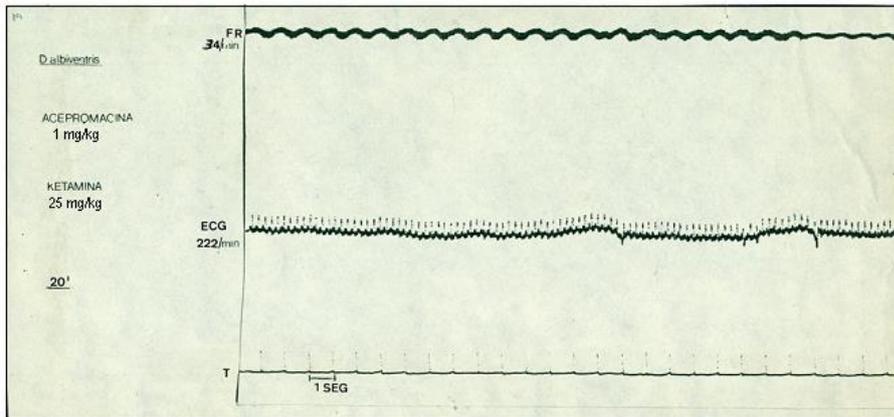
En la **Figura 9. 3. a.** puede observarse una porción del gráfico en papel del monitoreo cardíaco y respiratorio realizado en *D. albiventris* bajo los efectos del Tiopental a los 10 minutos de su aplicación **IP**, utilizando los métodos de registro antes referidos.

En la **Figura 9. 3. b.** pueden observarse los resultados utilizando la combinación de Acepromacina + Ketamina a los 20 minutos de su inoculación asociadas en la misma jeringa por vía **IM**, para la misma especie y con misma metodología de registro.

En la **Figura 9. 3. c.** se ven los efectos usando sólo Ketamina por vía **IM** también a los 20 minutos inyectada, con igual metodología de monitoreo y en la misma especie que en los casos anteriores

**Figura 9. 3. a.**  
Se observa el trazado en papel del monitoreo cardíaco y respiratorio de un ejemplar de *D. albiventris* bajo los efectos de Tiopental administrado por vía y dosis descriptos y utilizando los métodos de monitoreo ya referidos. La sección corresponde a los 10 minutos después de la inoculación.

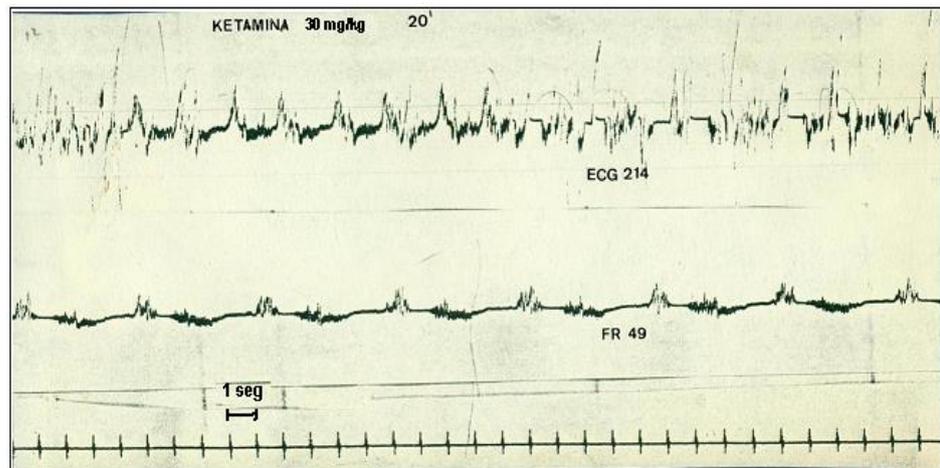




**Figura 9. 3. b.**  
Se observa el trazado en papel del monitoreo cardíaco y respiratorio de un ejemplar de *D. albiventris* bajo los efectos de la asociación de Acepromacina + Ketamina administrados por vía y dosis ya descritos y utilizando los métodos de monitoreo ya referidos. La sección corresponde a los 20 minutos después de la inoculación.

**Figura 9. 3. c.**

Se observa el trazado en papel del monitoreo cardíaco y respiratorio de un ejemplar de *D. albiventris* bajo los efectos de Ketamina, administrada por vía y dosis ya descrita y utilizando los métodos de monitoreo ya referidos. La sección corresponde a los 20 minutos después de la inoculación.



### 9. 5. 1. 2. Consideraciones finales de esta sección.

Todas las drogas anestésicas probadas resultaron ser eficaces para el tratamiento experimental de las especies en estudio. Se deben tomar en cuenta para su utilización las dosis, tiempos de inducción y acción consignados. No se observaron diferencias en las respuestas entre *D. albiventris* y *L. crassicaudata*.

En base a los primeros resultados obtenidos, se sugiere la utilización del pentobarbital sódico para la realización de cirugías profundas, como por ejemplo, laparotomías exploratorias experimentales, las que han sido llevadas a cabo con todo éxito.

Estudios posteriores, aún no concluidos, realizados en el Instituto sugieren la adopción de nuevas asociaciones farmacológicas, a fin de obtener una anestesia balanceada más adecuada para estas intervenciones de cirugía mayor. Dichos estudios sugieren la sustitución del Tiopental por combinaciones de drogas que mejoren su pobre analgesia visceral y los disturbios cardíacos de conducción que produce.

La asociación Acepromazina + Clorhidrato de Ketamina es altamente eficaz para procedimientos quirúrgicos menores y rápidos (en las dosis indicadas), como punción cardíaca o implantación de electrodos subcutáneos. En los casos de cirugías mayores y de duración más prolongada habría que considerar el aumento de la dosis de Ketamina en la combinación.

Finalmente, el uso de Clorhidrato de Ketamina o de Xilacina es de gran ayuda para la manipulación exhaustiva de los animales en trabajos experimentales (revisación de bolsa marsupial, marcación, morfometría, etc.) debido a su excelente efecto sedativo.

Es de resaltar la simpleza casi artesanal del equipo usado en la monitorización de este Estudio Preliminar. Lo que demuestra que puede realizarse un control simple y seguro del proceso anestésico sin necesidad de un sofisticado instrumental biológico.

El autor continúa con la investigación sobre estos tópicos, con el objeto de actualizar y optimizar el uso de agentes sedantes y anestésicos. Esto es debido a las variadas dosis y a la diversidad de asociaciones de drogas que pueden utilizarse. Del mismo modo se trabaja en las técnicas de registro que permitan evaluar, con cada vez mayor precisión, la respuesta clínica del animal.

### **9. 5. 2. Protocolos anestésicos para procedimientos quirúrgicos en *D. albiventris* y *L. crassicaudata*.**

En base a la experiencia adquirida mediante los estudios preliminares realizados y aprovechando observaciones empíricas realizadas, se establecieron diversos protocolos anestésicos para realizar las intervenciones quirúrgicas experimentales requeridas en las investigaciones llevadas a cabo en el INEUCI.

❖ **Protocolo A:**

<b>Droga</b>	<b>Atropina</b>	<b>Acepromacina</b>	<b>Clorhidrato de Ketamina</b>
<b>Concentración</b>	1 ‰	10 mg / mL	50 mg / mL
<b>Dosis</b>	0,1 mg/kg.	1 mg/kg	30 mg/kg
<b>Vía de administración</b>	IM	IM	IM
<b>Características</b>	Anticolinérgico, bloquea la estimulación parasimpática al sistema cardiopulmonar.	Tranquilizante mayor, neuroléptico, disminuye la excitabilidad nerviosa con indiferencia al medio y disminución de la actividad motora.	Anestésico inyectable, general, disociativo, no barbitúrico, de acción rápida ya descripto.

La Atropina, la Acepromacina y el C. de Ketamina se administraron en la misma jeringa en el miembro posterior derecho.

Este protocolo se utilizó en ambas zarigüeyas para:

- punción intracardíaca para extracción de sangre.

❖ **Protocolo B:**

<b>Droga</b>	<b>Diazepán</b>	<b>Clorhidrato de Ketamina</b>	<b>Tiopental sódico</b>
<b>Concentración</b>	5 mg / mL	50 mg / mL	Concentración variable
<b>Dosis</b>	1 mg/kg.	30 a 40 mg/kg.	40 a 60 mg/kg.
<b>Vía de administración</b>	IM	IM	intrapentoneal (IP)
<b>Características</b>	Tranquilizante y miorelajante; se lo utiliza en medicina veterinaria también como anticonvulsivante;	Anestésico inyectable, general, disociativo, no barbitúrico, de acción rápida ya descripto;	Anestésico barbitúrico de acción ultracorta (Howie y Smith, 1994);

El C. de Ketamina y el Diazepán se administraron en la misma jeringa en el miembro posterior derecho.

Este protocolo se utilizó en ambas zarigüeyas para las siguientes intervenciones neuroquirúrgicas:

- Colocación de electrodos superficiales permanentes para registro de la actividad bioeléctrica cerebral.
- Bulbectomía.
- Sección transversal de pedúnculo olfatorio.

❖ **Protocolo C:**

<b>Droga</b>	<b>Atropina</b>	<b>Diazepán</b>	<b>Xilacina</b>	<b>Clorhidrato de Ketamina</b>
<b>Concentración</b>	1 ‰	5 mg / mL	2 ‰	50 mg / mL
<b>Dosis</b>	0,1 mg/kg.	0,5 mg/kg.	3 mg/kg	60 mg/kg
<b>Vía de administración</b>	IM	IM	IM	IM
<b>Características</b>	Anticolinérgico, bloquea la estimulación parasimpática al sistema cardiopulmonar.	Tranquilizante y miorrelajante.	Neuroléptico, muy buen analgésico.	Anestésico inyectable, general, disociativo, no barbitúrico, de acción rápida ya descrito.

La Atropina y el Diazepán se administraron en la misma jeringa en uno de los miembros posteriores. El C. de Ketamina y la Xilacina se administraron en la misma jeringa en el otro miembro posterior, para no superar el volumen sugerido por inoculación en un solo punto (CCAC, 1998 d y e).

Este protocolo se utilizó en ambas zarigüeyas para las siguientes intervenciones neuroquirúrgicas:

- Colocación de electrodos superficiales permanentes para registro de la actividad bioeléctrica cerebral.
- Bulbectomía.
- Sección transversal de pedúnculo olfatorio.
- Esplancnicectomía y vagotomía troncular para inducir pancreatitis aguda.

**9. 5. 2. 1. Resultados.**

❖ **Protocolo A:**

Esta asociación buscó obtener una buena relajación muscular para un procedimiento de muy corta duración. Se obtuvo una inducción muy corta, de 3 a 5 minutos, un tiempo de acción quirúrgica de 30 +/- 8 minutos. Se logró disminuir la dosis del anestésico con buen efecto analgésico. La Atropina tuvo por objeto la protección cardíaca frente a la injuria mecánica. La recuperación se produjo en 30 (+/- 6 minutos).

❖ **Protocolo B:**

Produjo una anestesia profunda. El tiopental sódico tiene un efecto anestésico, con escasa analgesia visceral y buena relajación muscular, pudiendo el animal reaccionar en

forma refleja a estímulos dolorosos, pero sin despertar. Siendo el tiopental un anestésico de acción ultracorta, es poco confiable para procedimientos quirúrgicos prolongados. Por lo antedicho se lo administró junto a C. de Ketamina y Diazepán.

Esta asociación anestésica produjo un período de inducción de entre 5 y 10 minutos. El plano de anestesia quirúrgica fue de 1,5 a 2 hs. La duración de la fase de recuperación fue de aproximadamente 12 hs.

#### ❖ **Protocolo C:**

Produjo una anestesia profunda. Se introdujo en este protocolo el uso de Atropina y Xilacina, y se suprimió el uso del Tiopental. Se adoptó esta decisión a fin de evitar los trastornos de excitación vagal, profundizar la analgesia, disminuir las complicaciones cardiofuncionales y prolongar el efecto anestésico. Se tuvo en consideración las acciones indeseables del tiopental para el corazón y la pobre analgesia y las bondades en neuroprotección de la Atropina.

Esta asociación anestésica produjo una inducción de 5 y 8 minutos. Prolongó el tiempo del plano quirúrgico hasta aproximadamente 2,5 a 3 hs. La duración de la fase de recuperación fue de aproximadamente 12 horas (+/- 2 horas).

#### **9. 5. 2. 2. Consideraciones finales de esta sección.**

La dosis de C. de Ketamina puede considerarse alta si se tiene en cuenta la dosis de 10-20 mg/kg (IM) utilizada en la mayor parte especies mamíferas de tamaño comparable (Langrehr y Müller, 1967). La combinación Acepromacina + C. de Ketamina es recomendable para manipulaciones ó intervenciones quirúrgicas poco cruentas y de corta duración.

Dada la prolongada duración del efecto sedante y analgésico y la buena relajación muscular de la combinación Diazepán + C. de Ketamina + Tiopental resulta de elección para intervenciones quirúrgicas mayores, más cruentas y más prolongadas.

El uso de Xilacina en lugar del Tiopental y el aumento de la dosis de C. de Ketamina mejoraron el plano de analgesia y se obtuvo una disminución del tiempo de recuperación para una anestesia de larga duración.

En posteriores procedimientos quirúrgicos se ha desistido del uso del Tiopental debido a los riesgos cardíacos que algunos autores citados anteriormente han reportado.

En la experiencia de Inducción de Pancreatitis Aguda (García y col. 1988, a y b) fue requerida una segunda intervención quirúrgica con un período de anestesia quirúrgica de 4 a 4 ½ horas de duración para hacer tomas de muestras sanguíneas intraquirúrgicas. A tal fin, se adicionó un protocolo de refuerzo anestésico utilizando Diazepán y Ketamina a la mitad de la dosis inicial con inoculación vía intramuscular, mezclando las drogas en la misma jeringa, con aplicaciones cada 1 ½ horas. Si los signos de monitoreo lo indicaban los refuerzos se hicieron cada 1 hora.

En la **Tabla 9. VIII.** se resumen los resultados de los diversos protocolos usados en Zarigüeyas.

**Tabla 9. VIII.**

Resumen de los resultados de los diversos protocolos usados en Zarigüeyas.

<b>Protocolo</b>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>
<b>Asociación</b> <b>Dosis</b> <b>V. a.</b>	Atropina 0,1 mg/kg. IM Acepromacina 1 mg/kg IM C. Ketamina 30 mg/kg. IM	Diazepán 1 mg/kg. IM C. Ketamina 30 a 40 mg/kg. IM Tiopental 40 a 60 mg/kg. IP	Atropina 0,1 mg/kg. IM Diazepán 0,5 mg/kg. IM Xilacina 3 mg/kg IM C. Ketamina 60 mg/kg IM
<b>TI</b>	3 a 5 minutos	5 a 10 minutos	5 a 8 minutos
<b>TPQ</b>	Alrededor de 30 minutos	1,5 a 2 horas	2,5 a 3 horas
<b>TR</b>	Alrededor de 30 minutos	Alrededor de 12 horas	Alrededor de 12 horas
<b>Usos</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• punción intracardiaca</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Colocación de electrodos superficiales permanentes</li> <li>• Bulbectomía.</li> <li>• Sección del pedúnculo olfatorio</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Colocación de electrodos superficiales permanentes</li> <li>• Bulbectomía.</li> <li>• Sección del pedúnculo olfatorio.</li> <li>• Sección de comisura anterior.</li> <li>• Esplancnicectomía y vagotomía troncular</li> </ul>

**V.a.:** vías de administración.

**TI:** tiempo de inducción

**TPQ:** tiempo de plano quirúrgico

**TR:** tiempo de recuperación

**IM:** intramuscular

**IP:** intraperitoneal

El monitoreo clínico manual realizado durante el desarrollo de estos protocolos anestésicos no evidenció riesgos en los parámetros fisiológicos de referencia.

Las drogas y combinaciones utilizadas resultan difíciles de comparar con los resultados de otros autores, dado que la mayoría han sido utilizadas para maniobras de manipulación y toma de muestras, y no para procedimientos quirúrgicos como es el caso de la mayoría de las propuestas en esta Tesis.

-----00000-----

### **A modo de reflexión final.**

No siempre se lee en los reportes científicos un detalle de los procedimientos anestésicos realizados, cuando ellos son necesarios. Es alarmantemente habitual encontrar minimizada la importancia de la adecuada elección y uso de sedantes y anestésicos en los procedimientos quirúrgicos experimentales.

La enorme mayoría de los tratados actuales acerca de Animales de Laboratorio destacan un capítulo especial para describir las técnicas anestésicas más modernas y prácticas. Esto conlleva no sólo una seguridad en la confiabilidad y repetibilidad de los resultados experimentales sino el tratamiento ético del uso del modelo experimental vivo.

Hoy no es concebible el desarrollo de procedimientos quirúrgicos experimentales sin la adecuada elección y uso de anestesia y analgesia.

Las descripciones precedentes tienen por finalidad hacer tomar conciencia de los cuidados necesarios para utilizar los sedantes y anestésicos y jerarquizar su asociación a los procedimientos quirúrgicos experimentales.

Los modelos experimentales vivos merecen un adecuado trato en lo referente al manejo del dolor ya que ellos son herramientas imprescindibles en la investigación fisiológica biomédica, tanto para estudios de procesos biológicos como para estudios de respuestas biológicas.

## **Capítulo 10:**

### **Procedimientos quirúrgicos experimentales en Armadillos y Zarigüeyas.**

#### **10. 1. Introducción.**

Los avances de la investigación biomédica en general y de la investigación quirúrgica en particular, se han debido en gran medida a la experimentación en modelos animales, práctica realizada desde la antigüedad. De esta manera se ha podido comprobar la seguridad de los fármacos o de una nueva técnica quirúrgica sin poner en riesgo la vida o la integridad de los seres humanos (de la Garza-Rodea y col. 2007).

Actualmente se emplean millones de animales de laboratorio en el mundo para la experimentación científica, que incluyen proyectos de investigación básica, pruebas de constatación y diagnóstico, elaboración de vacunas y la enseñanza. También es adecuado destacar el valor de los animales de experimentación en la práctica quirúrgica, la cual se basa en el uso de distintos modelos para la demostración y adquisición de habilidades de los especialistas, así como en la cirugía experimental que se basa en la aplicación de diversas técnicas quirúrgicas para el diseño de modelos experimentales inducidos, a fin de probar hipótesis y enriquecer los conocimientos científicos de las ciencias biomédicas y el tratamiento de las enfermedades (de la Garza-Rodea y col. 2007).

Muchos cirujanos, a través de la historia, han transformado el concepto de cirugía e intervención quirúrgica con sus revolucionarios enfoques, no podemos evitar mencionar en este aspecto a Ambrosio Paré (1510-1590), William Beaumont (1785-1853), Ignacio Semmelweis (1818-1865), Joseph Lister (1827-1912). Sin embargo ellos no utilizaron métodos experimentales (Gutiérrez Samperio, 2000). El uso de modelos biológicos experimentales para la investigación biomédica se remonta a la época de la cultura helénica. Desde Alcmeón de Crotona (siglo VI a. C.) y Aristóteles (384-322 a.C.) pueden descubrirse detalladas investigaciones basadas en observación directa en animales. Recorriendo la historia, y pecando por relegar a sobresalientes investigadores, nos encontramos con Galeno (130-200), Leonardo da Vinci (1452-1519), Andrés Vesalio (1514-1564), William Harvey (1578-1657), Giuseppe Zambecari (1655-1728), John Hunter (1728-1793), John Warren (1778-1856), Louis Pasteur (1822-1895), Ivan Pavlov (1849-1936), William Halsted (1852-1922), Harvey Cushing (1869-1939), Alexis Carrel (1873-1944), todos ellos abordaron estudios clínico-quirúrgicos utilizando como modelos experimentales animales que brindaron a la ciencia formidables avances y bases

inamovibles a la investigación biomédica (de la Garza-Rodea y col., 2007). Pero es imposible no destacar que fue **Claude Bernard (1813–1878) el primero que usó la experimentación animal como base para aclarar dudas, comprobar conocimientos teóricos y aceptar o rechazar hipótesis, con lo que cambió substancialmente la fisiología, la medicina y la cirugía experimental** (Gutiérrez Samperio, 2000).

La segunda mitad del siglo pasado es historia más reciente, conocida y más divulgada, con progresos enormes, maravillosos y tan vertiginosos que cuesta abarcarlos completamente.

En el laboratorio de cirugía se diseñan y aplican en animales diferentes procedimientos quirúrgicos con el fin de estudiar las relaciones entre diferentes órganos, su función y/o su papel biológico, se realizan preparaciones en las que es posible registrar eventos fisiológicos para un mejor conocimiento del funcionamiento normal del organismo, alterar la función normal mediante factores estimulantes o inhibitorios, controlar la magnitud y duración de estos factores para correlacionarlos con la magnitud, duración y tipo de respuesta. Del mismo modo, también se ensayan nuevas técnicas quirúrgicas para ser aplicadas luego tanto a la medicina humana y animal. Se investigan también la respuesta a trauma, la influencia de la nutrición, las infecciones quirúrgicas, la acción de diferentes fármacos (Marckowitz y col., 1967; De la Sierra, 1996; Gutiérrez Samperio, 2000).

La cirugía experimental es básica para el entrenamiento de distintas técnicas quirúrgicas de los futuros cirujanos, es fundamental para el abordaje de estudios en fisiología básica y muy útil para la enseñanza de pregrado en las ciencias básicas médicas, mediante el empleo de experimentos o biomodelos diseñados especialmente a tal fin (Rodríguez Sosa y Pérez Idaboy, 2004).

Un Laboratorio o Departamento de Cirugía Experimental representa hoy en día una herramienta indispensable para el desarrollo adecuado en cualquier esfera del conocimiento de la investigación quirúrgica; por tanto debe estar integrado por un conjunto de recursos materiales y humanos dirigidos a desarrollar tres tareas fundamentales, la investigativa, que incluye la innovación tecnológica, la docente, tanto pregraduada como postgraduada, y por último, la prestación de servicios científico-técnicos a otras entidades (Rodríguez Sosa y Pérez Idaboy, 2004).

Debemos coincidir en que **intervención quirúrgica** responde al conjunto de acciones y técnicas leve o profundamente invasiva, efectuadas sobre un individuo,

afectando la integridad de su organismo. La misma se efectúa, generalmente, bajo efecto anestésico.

Toda intervención quirúrgica, ya sea por el procedimiento anestésico o por el trauma quirúrgico mismo, debe ser considerada una agresión al organismo lo que desencadenará una serie de eventos adaptativos. La respuesta de cada paciente dependerá de su «reserva funcional» la que en gran parte estará determinada por su estado fisiológico previo.

La angustia provocada por una técnicas quirúrgicas incorrectas o mal ejecutadas, o por cuidados postoperatorios inadecuados o mal administrados, constituyen los denominados dolores "inútiles". Un conocimiento adecuado de temas tales como la fisiología, la farmacología y la anatomía de los animales es esencial para el éxito de cualquier programa de investigación que involucre el uso de animales experimentales, especialmente cuando se requiere cirugía. Buenas técnicas quirúrgicas, una adecuada anestesia, instrumentos quirúrgicos apropiados y convenientes cuidados antes y después de la cirugía, son elementos necesarios tanto para el bienestar del animal de experimentación como para el éxito de la intervención quirúrgica realizada en el marco del proyecto de investigación; teniendo igual importancia la calidad del diseño de las instalaciones para las cirugías como el proyecto experimental programado (CCAC, 1998 c).

Los procedimientos quirúrgicos dejan expuestos tejidos delicados que naturalmente se encuentran cubiertos por la piel o mucosas. Esto da lugar a daño tisular, dolor e infecciones postoperatorias. Por lo tanto, las pautas para su realización deben ser muy rigurosas y programadas como:

- el entrenamiento del personal involucrado,
- la adecuación de las instalaciones quirúrgicas,
- la asepsia y desinfección adecuada,
- la preparación quirúrgica de sujeto experimental,
- la anestesia y analgesia,
- la técnica quirúrgica y
- el control postoperatorio de la cirugía (University of Minnesota; CCAC, 1998 c y d).

Los procedimientos quirúrgicos se pueden dividir o clasificar de varias formas, y tendrán en consecuencia diferentes requisitos, por ejemplo:

- **Cirugía mayor:** implica el abordaje de una cavidad corporal (tórax, abdomen, etc.), tiene un alto potencial para generar complicaciones significativas.

- **Cirugía menor:** implica procedimientos de menor riesgo como canulaciones e incisiones superficiales de la piel.
- **Cirugía con supervivencia** versus **Cirugía sin supervivencia:** dependiendo de si está previsto en el diseño experimental que el sujeto se recupere o no del procedimiento quirúrgico. La asepsia y la esterilidad no demandan ser muy rigurosos para los procedimientos sin supervivencia, a menos que la intervención sea lo suficientemente prolongada como para permitir que las infecciones bacterianas afecten el resultado del estudio (University of Minnesota).

Los procedimientos quirúrgicos experimentales tienen un mayor potencial para causar dolor o señales de alerta en los animales si no son realizados correctamente, dado que no poseen reglas preestablecidas (cirugías no regladas) de abordaje e intervención. De este modo presentan una exigencia adicional al cirujano quien debe previamente realizar un exhaustivo estudio de la anatomía especial y topográfica del sujeto en estudio como parte del diseño experimental, antes de acometer la cirugía.

En el Instituto de Neurociencia se requieren frecuentemente de procedimiento quirúrgicos innovadores, no reglados, para abordar regiones anatómicas que la cirugía terapéutica o reparadora convencional no contempla. Es así que el trabajo previo, en equipo, entre el anatomista y el cirujano es fundamental para un satisfactorio desarrollo de los procedimientos quirúrgicos experimentales.

## **10. 2. Consideraciones quirúrgicas generales.**

Se extractan a continuación una serie de terminología y consideraciones quirúrgicas generales para aunar criterios y desarrollar una terminología común para comprender más cabalmente los procedimientos quirúrgicos que serán descriptos posteriormente (CCAC, 1998 c y d)

### ➤ Premisas generales.

- Se requiere una sala adecuada y asignada para los procedimientos quirúrgicos.
- Se requiere mínimo personal circulante en la sala.
- Se requiere personal entrenado e idóneo en los procedimientos quirúrgicos.
- Se requiere un diseño adecuado del procedimiento quirúrgico.
- Los animales de laboratorio no poseen una resistencia al dolor particular.
- Se requiere un diseño anestésico y analgésico adecuado al procedimiento quirúrgico.
- Los animales de laboratorio no poseen una especial resistencia a las infecciones.

- Se requiere un ambiente y el instrumental debidamente desinfectado y estéril.
- Consideraciones prequirúrgicas que requiere el sujeto experimental.
  - Adaptación a nuevos ambientes.
  - Disminución del estrés.
  - Evaluación clínica previa
    - frecuencia respiratoria
    - frecuencia cardíaca
    - estado nutricional
    - estado de hidratación
    - estados especiales
      - acidosis
      - shock
      - anemia
      - del sistema nervioso central
      - ascites
      - depresión
    - métodos complementarios
      - análisis de laboratorio
      - estudios por imágenes
- Consideraciones intraquirúrgicas para con el sujeto experimental.
  - Monitoreo intraquirúrgico
    - respiración
    - golpe cardíaco
    - color mucosas
    - movimiento de vibrisas
    - reflejo podal (cobayo no)
    - reflejo auricular (cobayo si)
    - temperatura corporal
    - formación de orina
- Terminología quirúrgica
  - Diéresis: producir una solución de continuidad (sufijo: - tomía).
    - corte
    - divulsión
  - Exéresis: extraer del sujeto (sufijo: - ectomía)
    - escisión (pequeña porción)
    - resección (parte de órgano)
    - (órgano entero)
    - amputación (apéndice o miembro)
    - extirpación
  - Abocamiento: comunicar una víscera hueca al exterior o a otra cavidad (sufijo: - ostromía)
  - Síntesis: reparar la solución de continuidad. (sufijo: - rafia)

- En masa (varios planos tisulares juntos).
- Por planos tisulares (síntesis plano por plano).
- Tipo de sutura
  - Continua
  - Interrumpida
- Tiempos quirúrgicos.
  - diéresis
  - acto quirúrgico propiamente dicho (exéresis, ligadura, clampeo, etc.)
  - síntesis
  - hemostasia
- Instrumental apropiado según tiempo quirúrgico.
  - diéresis
    - tijera
    - bisturí
    - pinzas
  - síntesis
    - agujas
    - portaagujas
    - pinzas
    - hilos
      - absorbibles
      - no absorbibles
  - acto quirúrgico
    - instrumental específico
  - hemostasia
    - métodos físicos y químicos
    - pinzas hemostáticas
- Cuidados postquirúrgicos del sujeto experimental.
  - control de la temperatura ambiental y corporal
  - comportamiento del individuo
  - administración de analgésicos – antibióticos
  - terapia hidro-electrolítica
  - control de signos vitales

- frecuencias respiratoria y cardíaca.
- ingesta de líquidos
- micción (calidad y cantidad)
- defecación (calidad y cantidad)
- evolución de herida
- signos de dolor
  - vocalización
  - lucha
  - intento de huida
  - agresiones defensivas
  - paralización /inmovilización
  - jadeo
  - taquicardia
  - salivación
  - micción
  - defecación
  - dilatación pupilar
  - temblor
  - tremor
  - hipodipsia / adipsia
  - hipofagia / anorexia

Se describe a continuación una serie de intervenciones quirúrgicas que fueron diseñadas o rediseñadas por el autor a fin de asistir adecuadamente a las diversas experiencias neurobiológicas encaradas en el Instituto de Neurociencia.

### **10. 3. ARMADILLOS.**

---

La utilización de Animales de Laboratorio No Tradicionales en experimentación biomédica no sólo ha permitido redescubrir verdaderas maravillas adaptativas en lo que respecta a la anatomía y la fisiología, sino que también ha servido para abordar situaciones experimentales no resueltas mediante el uso de Animales de Laboratorio Tradicionales.

Este es el caso de los Armadillos. Este grupo de animales ha tenido gran importancia en el avance científico de diferentes áreas de la biomedicina como la infectología, la embriología, la endocrinología, la farmacología y la neurología entre otras.

En el caso concreto de la neurología, la particular ubicación taxonómica de los Armadillos permite plantear hipótesis de importancia al respecto.

Sólo nombrando la ausencia de epífisis, la neocorteza en forma de casquete superior que facilita la decortificación quirúrgica y el particular desarrollo del tracto olfatorio y el paleocortex surge la importancia de este modelo en la investigación neurobiológica.

Además, la particular rusticidad del *Chaetophractus villosus* dentro del grupo, hace de esta especie un apropiado modelo experimental que garantiza el diseño de cirugías innovadoras en esta área biomédica.

Se describen las intervenciones quirúrgicas que fueron realizadas como parte de diversos proyectos de investigación de diferentes grupos de científicos del INEUCI. El autor de esta Tesis intervino en el diseño y desarrollo de todas estas cirugías.

- ★ **implantación de electrodos craneales superficiales.**
- ★ **desaferentación olfatoria periférica.**
- ★ **sección de los Pedúnculos Olfatorios (PO).**
- ★ **extirpación de Bulbos Olfatorios (BO).**
- ★ **sección de Comisura Anterior (CA).**
- ★ **extirpación del Órgano Vomeronasal (OVN).**
- ★ **implante de electrodos craneales profundos.**
- ★ **extirpación de Ganglio Cervical Anterior (GCA).**
- ★ **extirpación de Glándula de Harder (GH).**

### **10. 3. 1. IMPLANTACIÓN DE ELECTRODOS CRANEALES SUPERFICIALES.**

#### **Introducción.**

El estudio de la actividad bioeléctrica cerebral ha sido de gran importancia en este grupo de animales.

La actividad bioeléctrica cerebral durante las fases del sueño de *C. villosus* fue descrita inicialmente por Affanni y col. (1968 a), García Samartino y col. (1981) y García Samartino (1983). Posteriormente, Cervino (1997 y 1999), ha estudiado y cuantificado dicha actividad utilizando modernas técnicas de análisis del EEG.

Se pueden citar, además, diversas experiencias y observaciones que confirman la citada importancia. El gran desarrollo relativo de los tubérculos (**TO**) y bulbos olfatorios (**BO**) del *C. villosus* hace que se presten admirablemente para el estudio de estas estructuras, sumado a la particular resistencia de esta especie a las intervenciones quirúrgicas experimentales (Cervino 1997 y 1999).

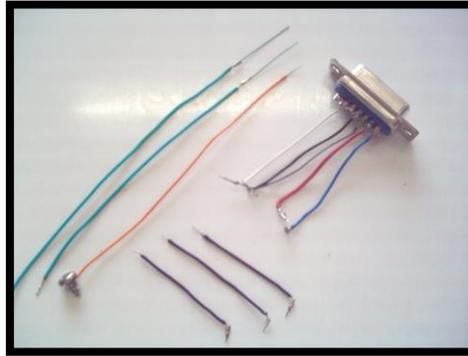
La particular actividad bioeléctrica de los bulbos olfatorios, neocorteza y corteza piriforme durante la vigilia ha permitido su empleo como modelo experimental para estudiar las propiedades neurofisiológicas del sistema olfatorio (Affanni y col., 1968 a y 1970; Affanni y García Samartino, 1976 y 1984; García Samartino, 1983; Cervino 1997 y 1999, Affanni y Cervino, 2000).

Para todas estas experiencias se hace necesaria la colocación de electrodos superficiales de implantación crónica, que permitirán registrar la actividad bioeléctrica en forma continuada de las zonas en estudio. El dispositivo debe ser lo suficientemente seguro para que el sujeto experimental no se lo quite.

A continuación se escribe la técnica quirúrgica requerida para ese estudio.

#### **Técnica quirúrgica**

Las características de los electrodos y los diferentes sistemas de registro de la actividad bioeléctrica cerebral en armadillos fueron descritos detalladamente por Cervino (1997, 1999). En la **Figura 10. 1.** se pueden observar dichos electrodos confeccionados con agujas entomológicas de acero inoxidable, cable de 2 mm y ficha hembra DB de 15 pines y soldados todos estos elementos convenientemente. También pueden utilizarse, en lugar de agujas entomológicas, pequeños tornillos de relojería confeccionados *ad-hoc* de acero inoxidable.



**Figura 10. 1.**

Fotografía de los electrodos confeccionados para el registro de la actividad bioeléctrica cerebral del *C. villosus*. Tomado de Cervino (1997, 1999)

Se utilizaron *C. villosus* machos y hembras. Los mismos pertenecían a la Colonia de Armadillos y Marsupiales del Instituto de Neurociencia. Todos ellos adultos y adaptados a las condiciones de cautividad del bioterio y con un ayuno de 12 horas.

Se realizó una higienización completa del animal.

Los animales se encontraban bajo anestesia profunda, se utilizó una anestesia balanceada ya descrita en el capítulo correspondiente.

Se realizó una cuidadosa desinfección del escudete cefálico óseo y su vecindad con iodopovidona al 10 % y se procede luego a marcar en su superficie la zona a incidir.

Se los colocaron en posición decúbito ventral sobre la mesa de operaciones y se envolvió todo el cuerpo con una bolsa plástica que además de cumplir la función de paño de campo, ayudó a la termorregulación de los sujetos

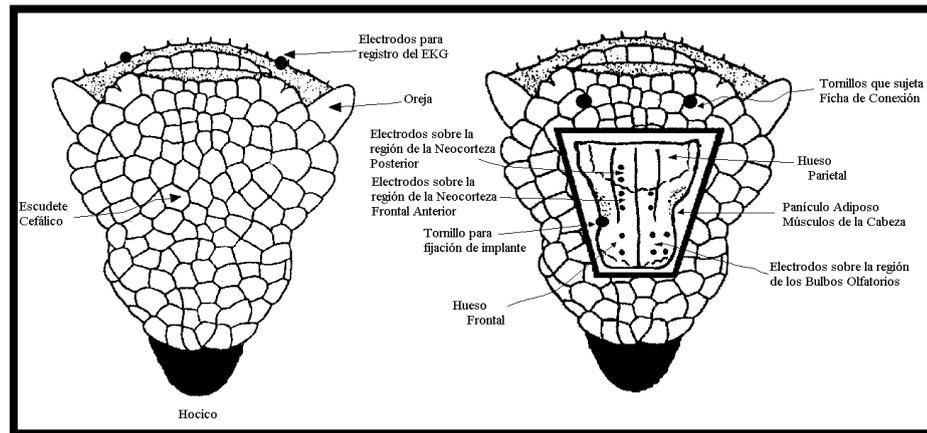
El acto quirúrgico de implantación de electrodos superficiales en el *C. villosus* se realizó con instrumental y material estéril y requirió un procedimiento que se realizó en tiempos intraoperatorios.

🕒 **Primer tiempo:**

Diéresis del escudete cefálico. Se efectúa la diéresis del escudete con un torno de 15000 RPM y una cierra circular de 22 mm de diámetro. Se realiza un corte en todo su espesor en forma de trapecio como se puede observar en la **Figura 10.2**.

🕒 **Segundo tiempo:**

Exéresis del escudete cefálico. Con legra delicada se efectúa la resección del escudete cortado. Con ayuda de legra, bisturí, pinza y divulsión con tijera Metzelbaum curva roma se elimina todo resto de tejidos blandos que se encuentran en el espacio entre el escudete retirado y el cráneo.



**Figura 10. 2.**

Ubicación de electrodos para el registro de la actividad bioeléctrica de los bulbos olfatorios y la neocorteza en el peludo *C. villosus*. A la derecha se muestra la región del escudete extraído y la posición de los electrodos implantados. (Tomado de Cervino 1977, 1999).

### ⌚ Tercer tiempo:

Limpieza del campo quirúrgico. Se procede a la hemostasia por compresión de los vasos sangrantes. Una vez expuesta la aponeurosis temporal que llega a la línea media del cráneo, con legra y gasa se van separando gradualmente los músculos epicraneos que se insertan en los huesos parietales y frontales. Esta desinserción de los músculos se realiza para evitar la contaminación de los registros de actividad bioeléctrica cerebral con la actividad eléctrica muscular.

Con gasa se limpian bien los huesos del cráneo, librándolos de restos de tejido blando y proponiendo un campo bien seco para poder implantar correctamente los electrodos y lograr una buena fijación del implante.

### ⌚ Cuarto tiempo:

Implante de ficha de conexión. El primer implante que se realiza es el de 2 tornillos de acero inoxidable sobre la porción de escudete cefálico no removida, los cuales van a servir como anclaje para la ficha de conexión hembra portadora de los cables de los electrodos. Con una fresa de cabeza redonda (diámetro 2,2 mm) se realizó la perforación en la parte posterior del escudete. Uno de los dos tornillos tiene además un cable soldado, el cual se usará como referencia a tierra en los registros (**Figura 10. 2**).

### ⌚ Quinto tiempo:

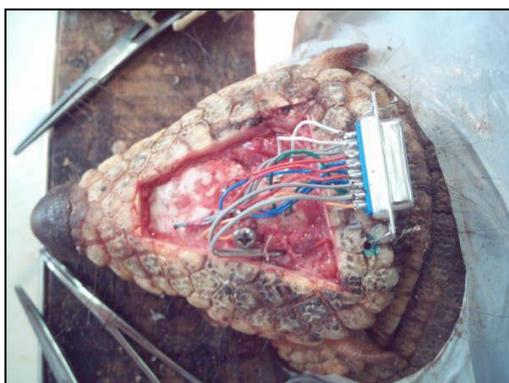
Implante de electrodos de registro. Mediante estudios anatómicos previos, se establecen las áreas de proyección craneana de las estructuras del sistema nervioso central (SNC) en estudio. Se marcan con punzón tantos puntos como electrodos se deseen colocar sobre los **BO** derecho e izquierdo en el hueso frontal y sobre la neocorteza (**NC**)

anterior y posterior en los huesos parietal rostral y parietal caudal respectivamente. Utilizando una pinza de disección se colocan a presión los electrodos anteriormente fabricados en los puntos marcados. Si los electrodos fueron hechos con tornillos, se perfora el cráneo en los puntos señalados, hasta la meninge, con una fresa de cabeza redonda (diámetro 0,25 mm), y luego se los atornillan (**Figura 10.2**).

🕒 **Sexto tiempo**

Conexión de los electrodos a la ficha y fijación de la estructura. Se sueldan los cables de los electrodos a la ficha hembra fijada primeramente (**Figura 10.3**). Se la cubre con acrílico para reforzar la seguridad del dispositivo. Se cubren y fijan los electrodos implantados y toda la zona vecinal con acrílico y resina, con el fin de asegurar el área y mantener a todo el conjunto aislado eléctricamente y de la humedad ambiente.

🕒 **Fin de la intervención quirúrgica.**

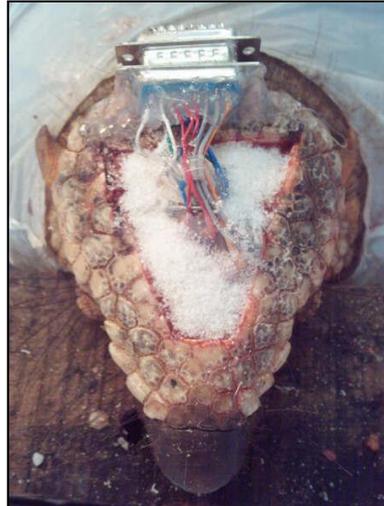


**Figura 10.3.**

Fotografía en la que se observa:

- la ventana realizada en el escudete cefálico
- la ubicación de los electrodos superficiales
- el tornillo de referencia a tierra
- fijación en caudal del escudete de la ficha hembra receptora de los cables provenientes de los electrodos

Se limpió y desinfectó la herida quirúrgica y el campo con agua oxigenada de 10 volúmenes (uso medicinal) y solución de iodopovidona al 10%. Se colocó aerosol a base de productos cicatrizantes y antibióticos (ej.: tetraciclina). Los tejidos expuestos se cubrieron con sacarosa para inhibir la proliferación de microorganismos y ayudar a una rápida granulación (**Figura 10.4**).



**Figura 10.4.**

Fotografía en otro ángulo de la intervención quirúrgica finalizada. Se puede observar la cobertura con acrílico y resina colocada con el fin de asegurar el área y mantener a todo el conjunto aislado eléctricamente y de la humedad ambiente. También se ve a los tejidos expuestos cubiertos con sacarosa para inhibir la proliferación de microorganismos y ayudar a una rápida granulación.

### **Cuidados posquirúrgicos.**

Se realizó control, limpieza y desinfección de la herida en forma diaria o cada dos días hasta la cicatrización total. Se utilizó para tal fin una solución de iodopovidona y agua oxigenada en partes iguales y se continuó con la colocación de sacarosa.

En los primeros días puede haber tejido necrosado en exceso, en tales casos se le remueve el tejido con instrumental quirúrgico, en condiciones asépticas y bajo sedación con el protocolo ya mencionado en el **Capítulo 5: condiciones de alojamiento (Tabla 10.I.)**. Las drogas se administran en la misma jeringa.

Se aplicó medicación analgésica, antiinflamatoria y antibiótica inyectable según el protocolo detallado en las **Tablas 10. II. y 10. III.**

**Tabla 10. I.**

Drogas, dosis y vía de inoculación utilizadas para sedación de *C. villosus*.

<b>DROGA</b>	<b>DOSIS</b>	<b>VÍA DE INOCULACIÓN</b>
<b>Clorhidrato de Ketamina</b>	25 – 30 mg/Kg.	Intramuscular (IM)
<b>Acepromazina</b>	1 mg/Kg.	Intramuscular (IM)

**Tabla 10.II.**

Drogas, dosis y vía de inoculación utilizados como terapia antibiótica posquirúrgica en *C. villosus*.

DROGA	CONCENTRACIÓN	DOSIS	VÍA	FRECUENCIA
<b>Penicilina</b> • G procaínica y • G benzatínica + <b>Dihidroestreptomicina</b>	10.000 UI/mL y 10.000 UI/mL + 200 mg/mL	0,5 mL totales	IM	Cada 48 horas durante 10 días

**Tabla 10.III.**

Drogas, dosis y vía de inoculación utilizados como terapia analgésica y antiinflamatoria posquirúrgicas en *C. villosus*.

DROGA	CONCENTRACIÓN	DOSIS	FRECUENCIA DE ADMINISTRACIÓN	VÍA
• Dexametasona	4mg/mL	1 mg/kg pv	Cada 24 hs. durante 5 días	IM
		0,5 mg/kg pv	Cada 24 hs. 5 días más durante los días hábiles	
• Triamcinolona	10 mg/mL	0,5 mg/kg pv	Los fines de semana hasta completar los 10 días de corticoterapia	IM
• Bencidamina	25 mg/mL	2,5 mg/kg pv	Cada 24 horas los 3 primeros días posquirúrgicos	IM

En la medicación con corticoides se combinó uno de acción inmediata y uno de acción prolongada por la dificultad de administración durante los días no laborables. La medicación antibiótica se administró cada 48 hs. por ser una sal de depósito.

### **Resultados y consideraciones finales.**

Todos los animales presentaron una recuperación satisfactoria tanto a la anestesia como al procedimiento quirúrgico. La cicatrización se concretó sin complicaciones en un plazo de 10 a 15 días.

No se observaron respuestas clínicas indeseables a la administración simultánea de corticoides y antiinflamatorios no esteroideos (AINES), los animales no presentaron decaimiento, ni regurgitación y todos presentaron normofagia; por lo que no fue necesario el uso de Ranitidina como protector gástrico.

La administración relativamente prolongada de corticoides fue diseñada en función de disminuir la respuesta inflamatoria y el edema a la manipulación local. Durante este tiempo relativamente prolongado de administración no se observaron efectos indeseables como poliuria y polidipsia en los animales en estudio.

La medicación antibiótica elegida, más las adecuadas curaciones antiséptica y la apropiada asepsia del campo quirúrgico se combinaron para obtener un posquirúrgico sin procesos infecciosos importantes que pusieran en riesgo la vida del animal ni el desarrollo de la experiencia.

Algunos ejemplares fueron utilizados para estudios histológicos de la zona quirúrgica a fin de confirmar la exactitud y rigurosidad de la intervención. Los mismos fueron anestesiados sin recuperación y perfundidos con soluciones fijadoras de los tejidos siguiendo las normas de anestesia y eutanasia recomendadas internacionalmente (CCAC, 1998 f).

En promedio, los implantes se desprendieron espontáneamente a las 4 semanas de colocados. El tejido subyacente mostraba signos de total cicatrización, lo cual nos sugiere que el desprendimiento se produce como reacción de los tejidos injuriados en su proceso de reparación.

Los animales que no fueron requeridos para estudios histológicos y los que sufrieron desprendimiento espontáneo del implante permanecieron en la Colonia en perfecto estado y presentando una estructura cicatrizal firme, acorde al tipo de tejido injuriado, pero sin las características macroscópicas del escudete normal.

### **10. 3. 2. DESAFERENTACIÓN OLFATORIA PERIFERICA**

#### **Introducción.**

La influencia de los órganos de los sentidos sobre los fenómenos hípnicos no ha sido tratada con la adecuada atención por parte de la mayoría de los investigadores. El armadillo *C. villosus* es un excelente modelo para el estudio de los distintos componentes del sistema olfatorio, pues tiene un gran desarrollo de los mismos (Affanni y col., 1968 a y 1970; Affanni y García Samartino, 1976 y 1984; García Samartino, 1983; Cervino 1997 y 1999). Mediante el análisis espectral de potencia se ha determinado que la eliminación de la aferencia olfatoria provoca la desaparición de la actividad gamma de los bulbos olfatorios y demás áreas durante la vigilia. Sin embargo durante el sueño la mencionada actividad gamma reaparece en las estructuras mencionadas, tanto durante el sueño lento

como paradójico, a pesar de la ausencia de aferencia olfatoria. La aplicación de estímulos despertadores suprime la mencionada actividad (Affanni y Cervino, 2005).

Por otra parte, se ha determinado que la MO de *C. villosus* posee ciertas diferencias con respecto a la de otros mamíferos incluidas la otros Armadillos. Estos contrastes serían atribuibles a su particular hábito cavícola (Ferrari y col., 2000).

Para estudiar muchos de estos eventos fisiológicos se hace necesario anular la recepción y comunicación de información por parte de la mucosa olfatoria (MO) con respecto a los BO y los centros encefálicos correspondientes. En animales con implante de electrodos superficiales permanentes, se pudo registrar la actividad bioeléctrica de la región desaferentada en forma continuada antes y después de la desaferentación olfatoria periférica. El dispositivo debe ser lo suficientemente seguro para que el sujeto experimental no se lo quite a lo largo de todo el experimento.

El *C. villosus*, sobre todo por su rusticidad, es un adecuado modelo experimental para estas experiencias. A continuación se describe la técnica quirúrgica para tal fin.

### **Técnica quirúrgica.**

Se utilizaron ejemplares de *C. villosus* machos y hembras, previamente implantados con electrodos según la técnica descrita más arriba. Los mismos pertenecían a la Colonia de Armadillos y Marsupiales del Instituto de Neurociencia. Todos ellos adultos y adaptados a las condiciones de cautividad del bioterio y con un ayuno de 12 horas.

Se realizó una higienización completa del animal.

Los animales se encontraban bajo anestesia profunda, se utilizó una anestesia balanceada ya descrita en el capítulo correspondiente.

En el caso que sean animales ya implantados, se comienza la cirugía con el cuarto tiempo. En el caso que se deban utilizar animales intactos, se sigue de la siguiente manera.

Se realiza una cuidadosa desinfección del escudete cefálico óseo y su vecindad con iodopovidona al 10 % y se procede luego a marcar en su superficie la zona a incidir.

Se coloca al animal en posición decúbito ventral sobre la mesa de operaciones y se envuelve todo el cuerpo con una bolsa plástica que además de cumplir la función de paño de campo, ayudó a la termorregulación de los sujetos

El acto quirúrgico de desaferentación olfatoria periférica en el *C. villosus* se realizó con instrumental y material estéril y requirió un procedimiento que se realizó en tiempos intraoperatorios. Los primeros tiempos fueron similares a los realizados en la implantación de electrodos superficiales permanentes.

🕒 **Primer tiempo:**

Diéresis del escudete cefálico. Se realizan los mismos pasos que en la **Implantación de electrodos craneales superficiales**.

🕒 **Segundo tiempo:**

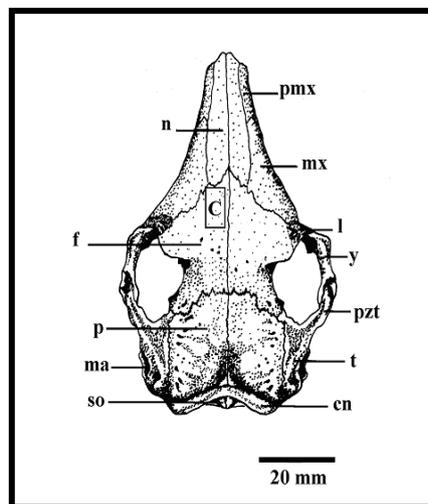
Exéresis del escudete cefálico. Se realizan los mismos pasos que en la **Implantación de electrodos craneales superficiales**.

🕒 **Tercer tiempo:**

Limpieza del campo quirúrgico. Se realizan los mismos pasos que en la **Implantación de electrodos craneales superficiales**.

🕒 **Cuarto tiempo.**

Diéresis del plano óseo. Con un torno manual de 15000 RPM y con una fresa de cabeza redonda (diámetro 2,2 mm) se realiza un orificio en el hueso frontal en el área paramedial oral del mismo (ver **Figura 10.3.a.: rectángulo C**), lugar de proyección ósea de los turbinados etmoidales. Se profundiza con cuidado hasta dejar expuesto los turbinales en la región posterior de la cavidad nasal.



**Figura 10.3.a.**

Esquema en vista dorsal del cráneo del *C. villosus*.

C: proyección de los huesos turbinales etmoidales con mucosa olfatoria.

cn: cresta nucal. f: frontal. l: lagrimal. mx: maxilar.

ma: meato auditivo externo. n: nasal. p: parietal.

pmx: premaxilar. pzt: proceso zigomático. so: supraoccipital.

t: temporal. y: yugal.

(Modificado de Squarcia y col., 1993 y Cervino, 1997 y 1999).

🕒 **Quinto tiempo.**

Exéresis de los huesos turbinales con mucosa olfatoria (MO) (**Figura 10.3.b**). Se realiza un curetaje de la cavidad con una cánula de vidrio *ad-hoc* de punta curva y extremo levemente irregular. Se extraen los restos de tejido con una bomba de succión de baja presión.

🕒 **Sexto tiempo.**

Destrucción de la mucosa olfatoria. Se introduce en la cavidad producida una gasa embebida con Sulfato de Zinc (SZn) al 10 % y se limpia las paredes de la cavidad nasal removiendo todo resto de tejido que haya quedado. Se mantiene al sujeto levemente inclinado hacia oral para evitar que cualquier resto de la solución progrese en sentido caudal hacia la zona faríngea y/o laríngea.



**Figura 10. 3. b.**

Fotografía donde se puede observar la ventana realizada para la desafrentación olfatoria periférica y los electrodos implantados para un posterior registro. Ya se han eliminado los huesos turbinales. Momento previo a la reparación y síntesis del plano óseo y fijación definitiva de los electrodos con resina y acrílico.

🕒 **Séptimo tiempo**

Síntesis de la diéresis ósea. Se coloca una placa de acetato sobre la ventana ósea realizada y se fija con acrílico dental con el fin de sustituir la porción de hueso eliminado.

🕒 **Fin de la intervención quirúrgica.**

Se limpia y desinfecta la herida quirúrgica y el campo con agua oxigenada de 10 volúmenes (uso medicinal) y solución de iodopovidona al 10%. Se colocó aerosol a base de productos cicatrizantes y antibióticos (ej.: tetraciclina). Los tejidos expuestos se

cubrieron con sacarosa para inhibir la proliferación de microorganismos y ayudar a una rápida granulación.

### **Cuidados posquirúrgicos.**

Se realizó control, limpieza y desinfección de la herida en forma diaria o cada dos días hasta la cicatrización total. Se utilizó para tal fin una solución de iodopovidona y agua oxigenada en partes iguales y se continuó con la colocación de sacarosa.

En los primeros días puede haber tejido necrosado en exceso, en tales casos se le remueve el tejido con instrumental quirúrgico, en condiciones asépticas y bajo sedación con el protocolo ya mencionado en el **Capítulo 5: condiciones de alojamiento (Tabla 10.I.)**. Las drogas se administran en la misma jeringa.

Se aplicó medicación analgésica, antiinflamatoria y antibiótica inyectable según el protocolo detallado en las **Tablas 10. II. y 10. III.**

En la medicación con corticoides se combinó uno de acción inmediata y uno de acción prolongada por la dificultad de administración durante los días no laborables. La medicación antibiótica se administró cada 48 hs. por ser una sal de depósito.

### **Resultados y consideraciones finales.**

Todos los animales presentaron una recuperación satisfactoria tanto a la anestesia como al procedimiento quirúrgico. La cicatrización se concretó sin complicaciones en un plazo de 10 a 15 días.

No se observaron respuestas clínicas indeseables a la administración simultánea de corticoides y antiinflamatorios no esteroideos (**AINES**), los animales no presentaron decaimiento, ni regurgitación y todos presentaron normofagia; por lo que no fue necesario el uso de Ranitidina como protector gástrico.

La administración relativamente prolongada de corticoides fue diseñada en función de disminuir la respuesta inflamatoria y el edema a la manipulación local. Durante este tiempo relativamente prolongado de administración no se observaron efectos indeseables como poliuria y polidipsia en los animales en estudio.

La medicación antibiótica elegida, más las adecuadas curaciones antiséptica y la apropiada asepsia del campo quirúrgico se combinaron para obtener un posquirúrgico sin procesos infecciosos importantes que pusieran en riesgo la vida del animal ni el desarrollo de la experiencia.

Al término de los estudios de la actividad bioeléctrica cerebral se realizaron estudios histológicos de la zona quirúrgica a fin de confirmar la exactitud y rigurosidad de la intervención. Los animales fueron anestesiados sin recuperación y perfundidos con soluciones fijadoras de los tejidos siguiendo las normas de anestesia y eutanasia recomendadas internacionalmente (CCAC, 1998 f).

### **10. 3. 3. - SECCIÓN DE LOS PEDÚNCULOS OLFATORIOS.**

#### **- EXÉRESIS DE LOS BULBOS OLFATORIOS (BULBECTOMÍA OLFATORIA).**

##### **Introducción.**

El gran desarrollo relativo de los tubérculos (**TO**) y bulbos olfatorios (**BO**) del *C. villosus* hace que se presten admirablemente para el estudio de estas estructuras, sumado a la particular resistencia de esta especie a las intervenciones quirúrgicas experimentales (Cervino 1997 y 1999).

A partir de los estudios de las fibras interbulbares de la comisura anterior (CA) se puede concluir (Affanni y col., 1969) que la configuración y dimensiones del **BO** y del núcleo olfatorio anterior (**NOA**) de este armadillo pueden ser modelos adecuados para realizar lesiones más restringidas en ambas estructuras, las cuales pueden aportar nuevos datos acerca del origen y destino de las fibras interbulbares. Es interesante señalar el siguiente descubrimiento: se detectaron fibras y cuerpo neuronales inmunorreactivos a GnRH en: **BO**, área septal, hipocampo (**Hpc**) y órgano subfornical. Una intensa inmunoactividad también se detectó en fibras localizadas en: induseum griseum, hipotálamo (**Hpt**), eminencia media, tallo hipofisiario y complejo nuclear amigdalino (Rodríguez Gil y col., 1996).

Se ha descrito la presencia en los **BO** de un nuevo tipo de actividad bioeléctrica, en el rango de las frecuencias  $\alpha$  (8-12 Hz): **actividad Rino-Centrífuga-Génica (RCG)**. Recibe este nombre porque aparece durante el sueño de ondas lentas (**SOL**) y el sueño rápido (**SR**) en animales con destrucción de la mucosa olfatoria (**MO**) o con supresión de la corriente aérea nasal. Se ha podido determinar particulares características y propiedades de dicha actividad en los **BO** (García Samartino y Affanni, 1976; Affanni y García Samartino, 1984 y Cervino, 1997 y 1999).

Como se dijo precedentemente, se ha determinado que la eliminación de la aferencia olfatoria provoca la desaparición de la actividad gamma de los bulbos olfatorios

y demás áreas durante la vigilia. Sin embargo durante el sueño la mencionada actividad gamma reaparece en las estructuras mencionadas, tanto durante el **SOL** como **SP**, a pesar de la ausencia de aferencia olfatoria. La aplicación de estímulos despertadores suprime la mencionada actividad. Sin embargo, la sección quirúrgica de los pedúnculos olfatorios impide la actividad gamma en todas las estructuras. Con este hecho se demuestra el origen central de dicha actividad. La actividad gamma aparecida durante las dos fases del sueño tiene las mismas características morfológicas y frecuenciales que la actividad gamma registrada con aferencia olfatoria durante la vigilia. Sobre la base de estas observaciones se postula que la actividad gamma de origen central podría contribuir a explicar los mecanismos de producción de alucinaciones olfatorias. (Affanni y Cervino, 1998 a y 2005)

También se ha estudiado el efecto de ciertas drogas sobre la actividad bioeléctrica del bulbo olfatorio de *C. villosus*, estriquina y clohidrato de ketamina (Scaravilli y col. 1972; Cervino, 1999), haloperidol (Affanni y col. 1978/79b), pentobarbital sódico (Affanni y col., 1986) y el herbicida 2-4-diclorobenzonitrilo (DCBN) (Affanni y col., 1996 a; Cervino, 1997; Cervino y col., 1998).

Una de las técnicas de estudio para establecer la función, el funcionamiento y el papel biológico que cumplen los bulbos olfatorios consiste en realizar diversas experiencias de registro de la actividad bioeléctrica cerebral con y sin la presencia de las estructuras en estudio.

A tales fines se diseñó una técnica quirúrgica para la extirpación uni o bilateral de los bulbos olfatorios, con sobrevida del modelo experimental. A continuación se detallan sus pasos.

### **Técnica quirúrgica**

Estas técnicas pueden realizarse en animales previamente implantados con electrodos para registro crónico del EEG o intactos.

Se utilizaron *C. villosus* machos y hembras. Los mismos pertenecían a la Colonia de Armadillos y Marsupiales del Instituto de Neurociencia. Todos ellos adultos y adaptados a las condiciones de cautividad del bioterio y con un ayuno de 12 horas.

Se realizó una higienización completa del animal. Los animales se encontraban bajo anestesia profunda, se utilizó una anestesia balanceada ya descrita en el capítulo correspondiente.

Se realizó una cuidadosa desinfección del escudete cefálico óseo y su vecindad con iodopovidona al 10 % y se procede luego a marcar en su superficie la zona a incidir.

Se los colocaron en posición decúbito ventral sobre la mesa de operaciones y se envolvió todo el cuerpo con una bolsa plástica que además de cumplir la función de paño de campo, ayudó a la termorregulación de los sujetos

El acto quirúrgico de sección de pedúnculos olfatorios y/o ablación uni o bilateral de los bulbos olfatorios se realizó con instrumental y material estéril y requirió un procedimiento que se realizó en tiempos intraoperatorios. Los primeros tiempos son similares a los realizados en la implantación superficial de electrodos.

El procedimiento experimental puede requerir sólo la sección de los pedúnculos olfatorios, o incluir también la remoción de los bulbos olfatorios. Por tal motivo la intervención quirúrgica se describirá en dos etapas que se desarrollaran según las necesidades del diseño experimental requerido:

- a. **Sección pedúncular y**
- b. **Exéresis bulbar,**

**a. Sección pedúncular.**

🕒 **Primer tiempo.**

Diéresis del escudete cefálico. Se realizan los mismos pasos que en la **Implantación de electrodos craneales superficiales.**

🕒 **Segundo tiempo.**

Exéresis del escudete cefálico. Se realizan los mismos pasos que en la **Implantación de electrodos craneales superficiales.**

🕒 **Tercer tiempo.**

Limpieza del campo quirúrgico. Se realizan los mismos pasos que en la **Implantación de electrodos craneales superficiales.**

🕒 **Cuarto tiempo.**

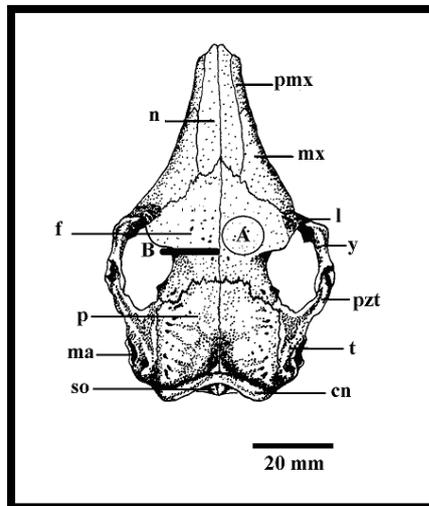
Diéresis del plano óseo. Con una fresa de cabeza redonda (diámetro 0,25 mm), se perfora el hueso frontal en forma paramedial, en su tercio medio, apenas oral a la escotadura que completa el arco zigomático. Este abordaje se realiza en uno de hemicráneos por vez, dependiendo si la intervención sea uni o bilateral. Ésta es la zona de proyección ósea de los **BO** (ver **Figura 4: círculo A**). Se agranda y profundiza la perforación hasta dejar expuestas las meninges.

🕒 **Quinto tiempo.**

Diéresis de las meninges. Se divulsionan las meninges con pinza y tijera como las utilizadas en cirugía oftalmológica, generando un ojal.

### ⌚ Sexto tiempo

Sección del pedúnculo olfatorio (**PO**). Se visualiza la estructura correspondiente al **BO**. Se introduce por la fenestración ósea, en caudal del **BO**, una espátula de acero inoxidable de punta redonda y roma en sentido perpendicular a la línea media y con una inclinación antero-posterior de 60° con respecto al plano de la cabeza. Se hunde hasta sentir el piso del cráneo y con movimientos laterales se secciona al **PO**, con la precaución de no seccionar los vasos mayores que irrigan al **BO**.



**Figura 10. 4.**

Esquema en vista dorsal del cráneo del *C. villosus*.

**A:** proyección del bulbo olfatorio derecho.

**B:** proyección de la línea de sección del **BO** izquierdo.

**cn:** cresta nugal. **f:** frontal. **l:** lagrimal. **mx:** maxilar. **ma:** meato auditivo externo.

**n:** nasal. **p:** parietal. **pmx:** premaxilar. **pzt:** proceso zigomático.

**so:** supraoccipital. **t:** temporal. **y:** yugal.

(Modificado de Squarcia y col., 1993 y Cervino, 1997 y 1999).

### ⌚ Séptimo tiempo

Síntesis de la diéresis ósea. Se coloca una placa de acetato sobre la ventana ósea realizada para la sección de los (**PO**) y se fija con acrílico dental, con el fin de sustituir la porción de hueso eliminado.

### ⌚ Fin de la primera etapa quirúrgica.

#### **b. Exéresis bulbar (Bulbectomía olfatoria).**

⌚ Se repiten los tiempos de la sección pedúncular desde el primero hasta el sexto

🕒 **Séptimo tiempo**

Remoción del **BO**. Se realiza con una bomba de aspiración de baja presión para no dañar los tejidos circundantes. Se introduce cánula de vidrio con la punta curva y extremo levemente irregular y diseñada *ad-hoc*. La misma está conectada a la bomba y con suaves movimientos se despeja la cavidad donde se aloja el **BO** hasta su total remoción.

🕒 **Octavo tiempo**

Síntesis de la diéresis ósea. Se coloca una placa de acetato sobre la ventana ósea realizada para la sección de los (PO) y se fija con acrílico dental, con el fin de sustituir la porción de hueso eliminado.

🕒 **Fin de la segunda etapa y de la intervención quirúrgica.**

En todos los casos, se limpió y desinfectó la herida quirúrgica y el campo con agua oxigenada de 10 volúmenes (uso medicinal) y solución de iodopovidona al 10%. Se colocó aerosol a base de productos cicatrizantes y antibióticos (ej.: tetraciclina). Los tejidos expuestos se cubrieron con sacarosa para inhibir la proliferación de microorganismos y ayudar a una rápida granulación.

**Cuidados posquirúrgicos.**

Se realizó control, limpieza y desinfección de la herida en forma diaria o cada dos días hasta la cicatrización total. Se utilizó para tal fin una solución de iodopovidona y agua oxigenada en partes iguales y se continuó con la colocación de sacarosa.

En los primeros días puede haber tejido necrosado en exceso, en tales casos se le remueve el tejido con instrumental quirúrgico, en condiciones asépticas y bajo sedación con el protocolo ya mencionado en el **Capítulo 5: condiciones de alojamiento (Tabla 10.I.)**. Las drogas se administran en la misma jeringa.

Se aplicó medicación analgésica, antiinflamatoria y antibiótica inyectable según el protocolo detallado en las **Tablas 10. II. y 10. III.**

En la medicación con corticoides se combinó uno de acción inmediata y uno de acción prolongada por la dificultad de administración durante los días no laborables. La medicación antibiótica se administró cada 48 hs. por ser una sal de depósito.

## **Resultados y consideraciones finales.**

Todos los animales presentaron una recuperación satisfactoria tanto a la anestesia como al procedimiento quirúrgico. La cicatrización se concretó sin complicaciones en un plazo de 10 a 15 días.

No se observaron respuestas clínicas indeseables a la administración simultánea de corticoides y antiinflamatorios no esteroideos (**AINES**), los animales no presentaron decaimiento, ni regurgitación y todos presentaron normofagia; por lo que no fue necesario el uso de Ranitidina como protector gástrico.

La administración relativamente prolongada de corticoides fue diseñada en función de disminuir la respuesta inflamatoria y el edema a la manipulación local. Durante este tiempo relativamente prolongado de administración no se observaron efectos indeseables como poliuria y polidipsia en los animales en estudio.

La medicación antibiótica elegida, más las adecuadas curaciones antiséptica y la apropiada asepsia del campo quirúrgico se combinaron para obtener un posquirúrgico sin procesos infecciosos importantes que pusieran en riesgo la vida del animal ni el desarrollo de la experiencia.

Al término de los estudios de la actividad bioeléctrica cerebral se realizaron estudios histológicos de la zona quirúrgica a fin de confirmar la exactitud y rigurosidad de la intervención. Los animales fueron anestesiados sin recuperación y perfundidos con soluciones fijadoras de los tejidos siguiendo las normas de anestesia y eutanasia recomendadas internacionalmente (CCAC, 1998 f).

### **10. 3. 4. SECCION DE LA COMISURA ANTERIOR**

#### **Introducción.**

El gran desarrollo relativo de los tubérculos (**TO**) y bulbos olfatorios (**BO**) del *C. villosus* hace que se presten admirablemente para el estudio de estas estructuras, sumado a la particular resistencia de esta especie a las intervenciones quirúrgicas experimentales (Cervino 1997 y 1999).

A partir de los estudios de las fibras interbulbares de la comisura anterior (**CA**) se puede concluir (Affanni y col., 1969) que la configuración y dimensiones del **BO** y del núcleo olfatorio anterior (**NOA**) de este armadillo pueden ser modelos adecuados para

realizar lesiones más restringidas en ambas estructuras, las cuales pueden aportar nuevos datos acerca del origen y destino de las fibras interbulbares.

Por unir las áreas filogenéticamente más antiguas del telencéfalo, la comisura anterior es la primera en aparecer en la escala de los vertebrados, asociando inicialmente los bulbos olfatorios, con fibras "en herradura", como describiera Edinger (1904).

Esta comisura está compuesta de fibras de distintas procedencias: bulbos olfatorios, espacios perforados anteriores, regiones prepiriformes, amígdalas, hipocampos y neocorteza temporal (Fontana, 2008).

Surge de esto la necesidad de interrumpir la comunicación interhemisférica establecida por la comisura anterior a fin de evitar la interrelación de los **PO** e independizar sus aferencias. Se hace necesario, entonces, el desarrollo de una técnica que permita esta alternativa experimental.

### **Técnica quirúrgica**

Al igual que antes, esta técnica puede realizarse en animales previamente implantados con electrodos para registro crónico del **EEG** o intactos. Se utilizaron ejemplares de *C. villosus* machos y hembras. Los mismos pertenecían a la Colonia de Armadillos y Marsupiales del Instituto de Neurociencia. Todos ellos adultos y adaptados a las condiciones de cautividad del bioterio y con un ayuno de 12 horas.

Se realizó una higienización completa del animal. Los animales se encontraban bajo anestesia profunda, se utilizó una anestesia balanceada ya descrita en el capítulo correspondiente. Se realizó una cuidadosa desinfección del escudete cefálico óseo y su vecindad con iodopovidona al 10 % y se procede luego a marcar en su superficie la zona a incidir.

Los peludos se colocaron en posición decúbito ventral sobre la mesa de operaciones y se envolvió todo el cuerpo con una bolsa plástica que además de cumplir la función de paño de campo, ayudó a la termorregulación de los sujetos

Esta técnica se realiza en dos etapas. La primera consiste en la implantación de electrodos superficiales permanentes. Se efectúan luego registros de la actividad bioeléctrica cerebral para obtener un examen de base. A continuación se cumple con la segunda etapa que es la sección de la comisura anterior (**CA**).

El acto quirúrgico de sección de la **CA** en el *C. villosus* se realizó con instrumental y material estéril y requirió un procedimiento que se realizó en tiempos intraoperatorios.

Los primeros tiempos fueron similares a los realizados en la implantación de electrodos superficiales permanentes.

### **Primera etapa.**

#### 🕒 **Primer tiempo a Quinto tiempo.**

Se repiten los procedimientos descriptos en la **Implantación superficial de electrodos.**

#### 🕒 **Sexto tiempo**

Conexión de los electrodos a la ficha y fijación de la estructura. Se sueldan los cables de los electrodos a la ficha hembra fijada primeramente. Se cubre con acrílico para reforzar la seguridad del dispositivo. Se cubren y fijan los electrodos implantados y toda la zona vecinal con acrílico y resina, con el fin de asegurar el área y mantener a todo el conjunto aislado eléctricamente y de la humedad ambiente. Se coloca, previamente, un separador de papel de aluminio de 3 a 4 mm de espesor entre los implantes correspondientes a los BO derecho e izquierdo, a fin de dejar liberada de acrílico y resina la proyección ósea de la CA. Una vez consolidada la estructura, se retira el separador.

#### 🕒 **Fin de la primera etapa.**

Se realizan los cuidados posquirúrgicos de rutina y se efectúan los estudios de la actividad bioeléctrica cerebral que servirán de base para los siguientes registros.

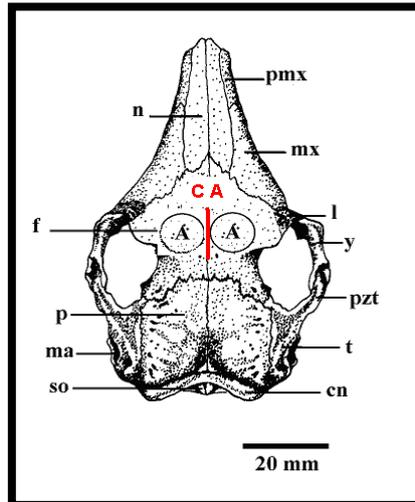
### **Segunda etapa.**

#### 🕒 **Primer tiempo.**

Diéresis del plano óseo. Con un torno manual de 15000 RPM y con una fresa de cabeza redonda (diámetro 2,2 mm) se amplía y regulariza el surco entre la implantación de los electrodos en la región de proyección ósea de los **BO** derecho e izquierdo realizado en la Primera etapa. Se desgasta suavemente el plano óseo en la línea media dorsal del cráneo en la unión de los huesos frontales hasta llegar a las meninges. Esta es la zona de proyección ósea de la **CA**. En la **Figura 10. 5.** se observa la zona de proyección ósea de la comisura anterior (**CA**).

#### 🕒 **Segundo tiempo.**

Diéresis de las meninges. Con pinza y tijera de cirugía oftalmológica se divulsionan las meninges hasta obtener un ojal.



**Figura 10. 5.**

Esquema en vista dorsal del cráneo del *C. villosus*. A: proyección de los BO.

**CA**: Línea de proyección ósea sobre la Comisura Anterior.

**cn**: cresta nugal. **f**: frontal. **l**: lagrimal. **mx**: maxilar.

**ma**: meato auditivo externo. **n**: nasal. **p**: parietal.

**pmx**: premaxilar. **pzt**: proceso zigomático.

**so**: supraoccipital. **t**: temporal. **y**: yugal.

(Modificado de Squarcia y col., 1993 y Cervino, 1997 y 1999).

#### ⌚ Tercer tiempo.

Sección de la **CA**. Se introduce una espátula de extremo redondo y romo de un tamaño acorde a la anatomía de la región y al ojal de las meninges. Se introduce la misma en dicho ojal paralela a la línea media y en sentido dorso ventral hasta sentir que se ha tocado el piso del cráneo. Con movimientos suaves oro-caudales se secciona la **CA**, con la precaución de no cortar los vasos que irrigan al **BO**. Se retira la espátula.

#### ⌚ Cuarto tiempo.

Síntesis del plano óseo. Se sella el surco realizado en la sutura media de los huesos frontales con esponja hemostática de gelatina (Spongostán®) y con acrílico se sella la solución de continuidad del plano óseo ajustando el campo quirúrgico con los electrodos implantados originalmente.

#### ⌚ Fin del procedimiento quirúrgico.

Se limpió y desinfectó la herida quirúrgica y el campo con agua oxigenada de 10 volúmenes (uso medicinal) y solución de iodopovidona al 10%. Se colocó aerosol a base de productos cicatrizantes y antibióticos (ej.: tetraciclina). Los tejidos expuestos se cubrieron con sacarosa para inhibir la proliferación de microorganismos y ayudar a una rápida granulación.

### **Cuidados posquirúrgicos.**

Se realizó control, limpieza y desinfección de la herida en forma diaria o cada dos días hasta la cicatrización total. Se utilizó para tal fin una solución de iodopovidona y agua oxigenada en partes iguales y se continuó con la colocación de sacarosa.

En los primeros días puede haber tejido necrosado en exceso, en tales casos se le remueve el tejido con instrumental quirúrgico, en condiciones asépticas y bajo sedación con el protocolo ya mencionado en el **Capítulo 5: condiciones de alojamiento (Tabla 10.I.)**. Las drogas se administran en la misma jeringa.

Se aplicó medicación analgésica, antiinflamatoria y antibiótica inyectable según el protocolo detallado en las **Tablas 10. II. y 10. III.**

En la medicación con corticoides se combinó uno de acción inmediata y uno de acción prolongada por la dificultad de administración durante los días no laborables. La medicación antibiótica se administró cada 48 hs. por ser una sal de depósito.

### **Resultados y consideraciones finales.**

Todos los animales presentaron una recuperación satisfactoria tanto a la anestesia como al procedimiento quirúrgico. La cicatrización se concretó sin complicaciones como en intervenciones descriptas anteriormente.

No se observaron respuestas clínicas indeseables a la administración simultánea de corticoides y antiinflamatorios no esteroideos (**AINES**), los animales no presentaron decaimiento, ni regurgitación y todos presentaron normofagia; por lo que no fue necesario el uso de Ranitidina como protector gástrico.

La administración relativamente prolongada de corticoides fue diseñada en función de disminuir la respuesta inflamatoria y el edema a la manipulación local. Durante este tiempo relativamente prolongado de administración no se observaron efectos indeseables como poliuria y polidipsia en los animales en estudio.

La medicación antibiótica elegida, más las adecuadas curaciones antiséptica y la apropiada asepsia del campo quirúrgico se combinaron para obtener un posquirúrgico sin procesos infecciosos importantes que pusieran en riesgo la vida del animal ni el desarrollo de la experiencia.

Al término de los estudios de la actividad bioeléctrica cerebral se realizaron estudios histológicos de la zona quirúrgica a fin de confirmar la exactitud y rigurosidad de la intervención. Los animales fueron anestesiados sin recuperación y perfundidos con

soluciones fijadoras de los tejidos siguiendo las normas de anestesia y eutanasia recomendadas internacionalmente (CCAC, 1998 f).

### **10. 3. 5. EXÉRESIS DEL ÓRGANO VOMERONASAL**<sup>15</sup>

#### **Introducción.**

Los órganos vomeronasales (**OVN**) son estructuras pares ubicadas una a cada lado del septum nasal sobre el piso de la cavidad nasal. Son estructuras aproximadamente cilíndricas, cuyo extremo oral se presenta abierto hacia el exterior mientras que su extremo caudal termina en fondo de saco ciego. Los mencionados órganos son objeto de creciente atención por parte de los fisiólogos en razón del importante papel que desempeñan en la reproducción y alimentación de ciertos mamíferos (Estes, 1972; Winans y Powers, 1977; Beauchamps y col., 1982; Wysocki y col., 1983; Kudjakova y col., 2007; Martel y Baum, 2007; Thompson y col., 2007)

Affanni y Cervino (2004) demostraron que la ablación de los órganos vomeronasales provoca un dramático cambio en la expresión electrofisiológica del sueño paradójico del armadillo *C. villosus*. Los mencionados órganos son el punto de partida de importantes aferencias cerebrales. Estudios realizados por Scalia y Winans (1975) en conejo, opossum y rata demostraron aferencias del órgano vomeronasal hacia en el núcleo amigdalino medial, la región preóptica hipotalámica y la parte posteromedial del núcleo amigdalino cortical. Conexiones con la amígdala fueron también demostradas por Mohedano-Moriano y col. (2007).

Para averiguar la función del órgano se ha recurrido a la sección de los nervios vomeronasales en su trayecto intracraneal o nasal (Matthes, 1932; Planel, 1953; Winans y Powers, 1977) o a la destrucción del órgano mismo (Vaccarezza y col. 1979).

Estos últimos autores desarrollaron dos técnicas para la destrucción del órgano vomeronasal en rata por medio de lesiones electrolíticas o térmicas utilizando dos vías de abordaje a saber:

- un vía superior que introduce electrodos para lesiones electrolíticas a través de las fosas nasales y

---

<sup>15</sup>Parte de la información presentada a continuación fue publicada como: “Una técnica para la extirpación de los órganos vomeronasales en el armadillo *Chaetophractus villosus*. Abordaje desde la cavidad bucal”. Iodice, O. H.; C. O. Cervino y J. M. Affanni. 2009. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria. En prensa.

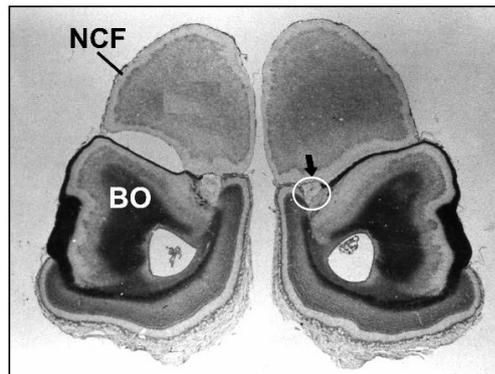
- una vía inferior que lesiona a los órganos con termocauterío a través de una abertura practicada por vía bucal en el hueso maxilar.

Las lo acertado de estas lesiones se verificaban histológicamente en cortes seriados realizados previo sometimiento de los huesos del cráneo a técnicas de descalcificación. Esta técnica es laboriosa e insume un considerable tiempo.

Cabe señalar que extender las investigaciones a otras especies puede suministrar datos que contribuyan a profundizar el conocimiento del órgano.

El armadillo *C. villosus* aparece como un excelente modelo para este tipo de estudios en razón del considerable tamaño de los órganos vomeronasales y de su bien definido y conspicuo bulbo olfatorio accesorio (**Figura 10.6.**).

Por otra parte, se considera probable que los órganos vomeronasales con su abertura hacia la entrada de las narinas, juegue un papel relacionado con los hábitos de este animal. Como es sabido, el armadillo aludido hunde su hocico en la tierra mientras cava y puede respirar y olfatear aun cuando su nariz está rodeada por una gruesa capa de tierra (Affanni y col. 1982).



**Figura 10. 6.**

Corte vértico-transversal de los bulbos olfatorios en *Chaetophractus villosus*. La flecha señala el bulbo olfatorio accesorio. **BO**, bulbo olfatorio principal; **NCF**, neocortex frontal.

Sin embargo, en el armadillo se presentan serios inconvenientes para la aplicación de la técnica quirúrgica llamada por vía superior. A diferencia de lo que sucede en la rata, la presencia en los armadillos de un escudete cefálico que cubre parte de la región nasal, impide un cómodo abordaje para esta cirugía. Por otra parte, el abordaje nasal corre el riesgo de lesionar la mucosa nasal y los cornetes. Esto último constituye un problema cuando se pretende realizar estudios de fisiología olfatoria, una de las actividades principales del Instituto de Neurociencia.

Por estos motivos se ha desarrollado una técnica de abordaje por vía bucal que permite la ablación de la totalidad de cada uno de los dos órganos vomeronasales. Esto asimismo es factible debido al tamaño relativamente grande del órgano vomeronasal en estos animales. Esta técnica permite tener la certeza visual de la extirpación total del órgano, sin tener la necesidad de verificar histológicamente la exéresis del mismo ni el grado de las lesiones vecinales, evitando la laboriosidad y el tiempo que insume esta práctica histológica.

### **Técnica quirúrgica**

Se utilizaron *C. villosus* machos y hembras. Los mismos pertenecían a la Colonia de Armadillos y Marsupiales del Instituto de Neurociencia. Todos ellos adultos y adaptados a las condiciones de cautividad del bioterio y con un ayuno de 12 horas.

Se realizó una higienización completa del animal.

Los animales se encontraban bajo anestesia profunda, se utilizó una anestesia balanceada ya descrita en el capítulo correspondiente.

Se realizó una cuidadosa desinfección de la zona rostral y su vecindad con iodopovidona al 10 %.

Se envolvió todo el cuerpo con una bolsa plástica que además de cumplir la función de paño de campo, ayudó a la termorregulación de los sujetos

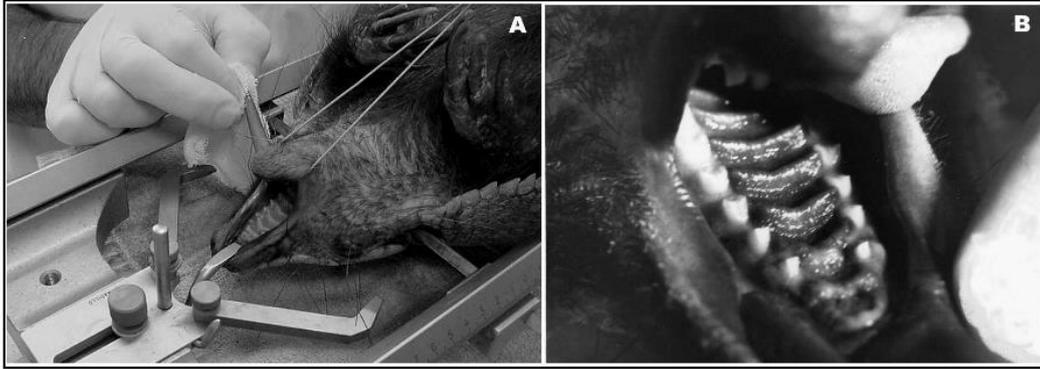
Para efectuar la extirpación del órgano vomeronasal en el *C. villosus* se contó con una lupa estereoscópica y se realizó con instrumental y material estéril. El procedimiento se realizó una sucesión de tiempos intraoperatorios.

#### **🕒 Primer tiempo.**

Presentación del sujeto para la diéresis. Se ubica al animal en el aparato estereotáxico construido "*ad-hoc*" para armadillos por David Koppf Inc. New York. Se rota el mismo para que quede en decúbito dorsal (**Figura 10. 7. A**). Se mantiene cavidad bucal abierta y se lateralizada la lengua, ambas acciones se conservan en forma permanente durante toda la intervención quirúrgica. Se expone de esta forma el techo de la boca (**Figura 10. 7. B**) que se enfoca con un microscopio quirúrgico OPMI Zeiss 6-5.

#### **🕒 Segundo tiempo.**

Diéresis de la mucosa palatina. Se realizó la incisión de la mucosa bucal palatina con bisturí. Los bordes de la herida se separan y se mantiene en dicha posición con sujetadores quirúrgicos. Se realiza la hemostasia por compresión.



**Figura 10.7.**

El armadillo en el aparato estereotáxico, construido por David Koopf (New York).

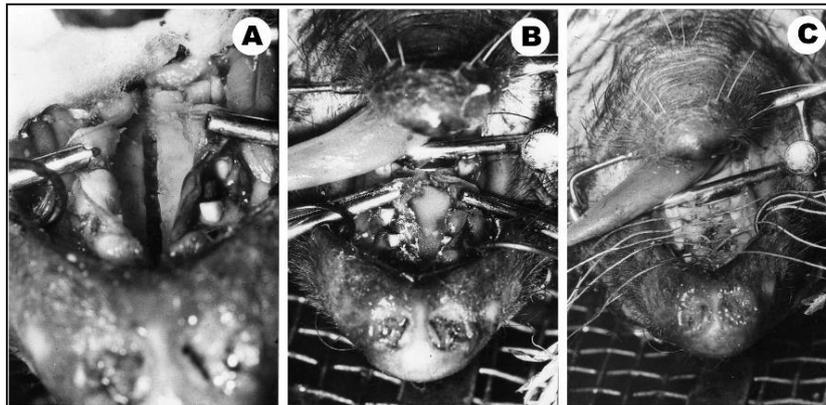
**A.** El aparato estereotáxico ha sido girado 180° de modo que el animal quedase en decúbito dorsal.

Notar que la boca se mantiene abierta y la lengua lateralizada.

**B.** Vista del techo de la boca en la que puede observarse la mucosa palatina.

### 🕒 Tercer tiempo.

Diéresis el plano óseo. Se procedió al legrado del hueso maxilar. Luego, con una fresa de cabeza redonda (diámetro 0,25 mm) montada en un torno de 15000 RPM, se procede al corte por desgaste del hueso maxilar expuesto a la altura de la línea media. Se practicó un orificio rectangular, de 4 mm de ancho y 15 mm de largo. Se identificaron el borde inferior del septum nasal y los órganos vomeronasales (**Foto 10. 8. A**)



**Figura 10. 8.**

Pasos de la cirugía de extirpación del órgano vomeronasal. **A.** Vista del paladar óseo donde se ha practicado el orificio rectangular. **B.** Vista en la que puede observarse el orificio obturado con acrílico. **C.** Sutura de la mucosa nasal. Para esta figura no se utilizó el tipo de hilo descrito en Materiales y Métodos.

### 🕒 Cuarto tiempo.

Exéresis el OVN. Se pinzan los extremos de cada órgano con fórceps de cirugía ocular y se traiciona. Se extirpa cada órgano mediante divulsión y corte con una tijera curva de

cirugía oftalmológica. Se verifica bajo lupa que cada órgano haya sido total y correctamente extirpado.

🕒 **Quinto tiempo.**

Síntesis del plano óseo. Se procede a la obturación con acrílico de la abertura ósea (**Figura 10.8. B.**).

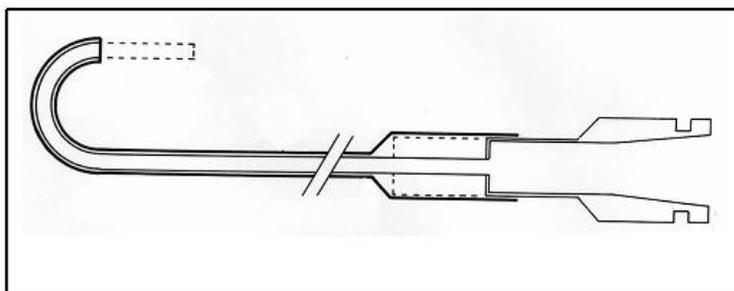
🕒 **Sexto tiempo.**

Síntesis de la mucosa oral. Se suturó la mucosa bucal palatina con aguja atraumática curva 3/8 de círculo de 20mm e hilo monofilamento 3/0 (**Figura 10.8. C.**).

🕒 **Séptimo tiempo.**

Limpieza del campo. Durante el procedimiento quirúrgico se produce una abundante, aunque no comprometedor, hemorragia en napa de la mucosa oral. Esta sangre puede inundar el interior de las fosas nasales y al coagularse impedir el normal flujo aéreo. Es aconsejable dejar pasar 30 a 40 minutos y luego realizar un lavado con solución fisiológica tibia para eliminar coágulos. Para dicho limpieza se mantiene al animal en decúbito dorsal con un marcado plano inclinado caudo-oral. Se introduce, a través de la boca, una cánula curvada en uno de sus extremos construida *ad-hoc* (**Figura 10. 9.**) montada en una jeringa conteniendo la solución. La curvatura de dicha cánula se orienta por dentro de las coanas y se instila el contenido de la jeringa. Este procedimiento permitirá hacer pasar la solución fisiológica en sentido retrógrado (de aboral a oral), la que fluirá por los orificios nasales.

🕒 **Fin de la intervención quirúrgica.**



**Figura 10. 9.**

Esquema de la cánula de metal construida *ad-hoc* por el Lic. R. E. Dezi. Presenta una curvatura en uno de sus extremos para la instilación retrógrada de fluidos por las cavidades nasales. Esta cánula se monta sobre una jeringa que contendrá los líquidos a instilar.

Se limpió y desinfectó la herida quirúrgica y el campo con una solución de iodopovidona al 10%.

### **Cuidados posquirúrgicos.**

Se realizó control, herida en forma diaria o cada dos días hasta la cicatrización total. Cuando las secreciones producidas lo requerían, se efectuaba una limpieza de la zona con solución de iodopovidona al 10%.

Se aplicó medicación analgésica, antiinflamatoria y antibiótica inyectable según el protocolo detallado en las **Tablas 10. IV. y 10. V.**

**Tabla 10.IV.**

Drogas, dosis y vía de inoculación utilizados como terapia analgésica y antiinflamatoria posquirúrgicas en *C. villosus*.

<b>DROGA</b>	<b>CONCENTRACIÓN</b>	<b>DOSIS</b>	<b>FRECUENCIA DE ADMINISTRACIÓN</b>	<b>VÍA</b>
• <b>Dexametasona</b>	4mg/mL	0,5 mg/kg pv	Cada 24 hs durante 2 días.	IM
• <b>Bencidamina</b>	25 mg/mL	2,5 mg/kg pv	Cada 24 horas durante 5 días.	IM

**Tabla 10.V.**

Droga, dosis y vía de inoculación utilizados como terapia antibiótica posquirúrgica en *C. villosus*.

<b>DROGA</b>	<b>CONCENTRACION</b>	<b>DOSIS</b>	<b>VIA</b>	<b>FRECUENCIA</b>
<b>Enrofloxacin</b>	5 %	10 mg / kg pv	IM	Cada 24 hs durante 5 días.

### **Resultados y consideraciones finales.**

Todos los animales presentaron una recuperación satisfactoria tanto a la anestesia como al procedimiento quirúrgico. La cicatrización se concretó sin complicaciones en un plazo de 5 a 7 días.

No se observaron respuestas clínicas indeseables a la administración simultánea de corticoides y antiinflamatorios no esteroideos (**AINES**), los animales no presentaron decaimiento, ni regurgitación y todos presentaron normofagia; por lo que no fue necesario el uso de Ranitidina como protector gástrico.

La medicación antibiótica elegida, más las adecuadas curaciones antiséptica estratégicas y la apropiada asepsia del campo quirúrgico se combinaron para obtener un

posquirúrgico sin procesos infecciosos importantes que pusieran en riesgo la vida del animal ni el desarrollo de la experiencia.

Los animales fueron utilizados para estudios histológicos de la zona quirúrgica a fin de confirmar la exactitud y rigurosidad de la intervención. Los mismos fueron anestesiados sin recuperación y perfundidos con soluciones fijadoras de los tejidos siguiendo las normas de anestesia y eutanasia recomendadas internacionalmente (CCAC, 1998 f).

Con esta técnica los animales aparecieron en muy buen estado desde el mismo día de la operación. Comenzaron a comer a las 24 hs y fueron capaces de respirar por sus narinas desde el primer momento posquirúrgico.

La ventaja de esta técnica de extirpación con tijera reside en que suministra la certeza de la extirpación total del órgano. Cualquier verificación de la ausencia del mismo puede realizarse macroscópicamente en razón de su considerable tamaño. En este armadillo, esto es mucho más rápido y más práctico que la técnica de destrucción por termocauterío. En el armadillo no hace falta pues, la verificación histológica de la extirpación. Esta podría realizarse sin mayores inconvenientes pero debe tenerse en cuenta que los huesos de esta especie de armadillo son extraordinariamente duros y de consistencia ebúrnea. Esto hace que las técnicas corrientes de descalcificación tarden aproximadamente tres meses en surtir efecto y aún así el ablandamiento del hueso no es perfecto., cosa que origina muchos daños en las navajas de los micrótomos. Por otra parte, se retarda notablemente el proceso de diagnóstico. En resumen, esta técnica ofrece un método rápido y seguro para la extirpación del órgano vomeronasal y la verificación anatómica de la misma. .Queda así abierta la posibilidad de una investigación sistemática sobre el papel biológico del mencionado órgano en esta especie de armadillo.

### **10. 3. 6. IMPLANTACIÓN DE ELECTRODOS CRANEALES PROFUNDOS.**

#### **Introducción.**

Como se ha dicho anteriormente, el estudio de la actividad bioeléctrica cerebral en este grupo animal ha sido de gran importancia en la neurofisiología.

Dicha actividad bioeléctrica durante las fases del sueño de *C. villosus* fue descrita inicialmente por Affanni y col. (1968 a), García Samartino y col. (1981) y García Samartino (1983). Posteriormente, Cervino (1997 y 1999), ha estudiado y cuantificado dicha actividad utilizando modernas técnicas de estudio por cuantificación del EEG.

La particular actividad bioeléctrica de los bulbos olfatorios, neocorteza y corteza piriforme durante la vigilia ha permitido su empleo como modelo experimental para estudiar las propiedades neurofisiológicas del sistema olfatorio (Affanni y col., 1968 a y 1970; Affanni y García Samartino, 1976 y 1984; García Samartino, 1983; Cervino 1997 y 1999, Affanni y Cervino, 2000).

Diversos experimentos y observaciones han confirmado la citada importancia. La influencia de la ablación de las vías olfatorias y /o de la vía vomeronasal sobre la actividad bioeléctrica de otras localizaciones cerebrales como la zona piriforme ha sido descrita por Affanni y Cervino (2001, 2004 y 2005), tanto en la vigilia como en el sueño.

Para todas estas experiencias ha sido necesaria la colocación de electrodos profundos permanentes para permitir registrar la actividad bioeléctrica en forma continuada de las zonas en estudio. El dispositivo debe ser lo suficientemente seguro para que el sujeto experimental no se lo quite.

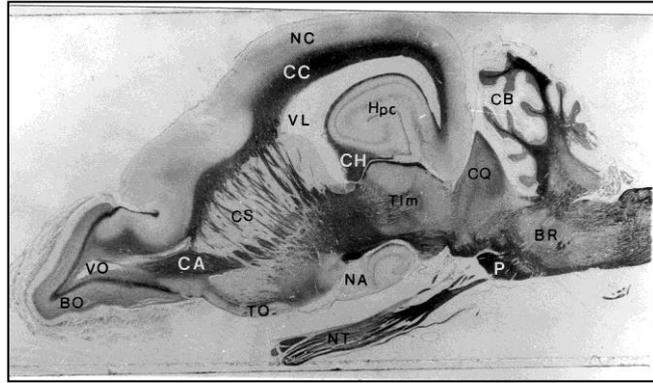
A continuación se describe la técnica quirúrgica requerida para ese estudio.

### **Técnica quirúrgica**

Las características de los electrodos y los diferentes sistemas de registro de la actividad bioeléctrica cerebral en armadillos fueron descritos detalladamente por Cervino (1997, 1999). En la **Figura 10. 1.** se pueden observar los electrodos confeccionados para la colocación de electrodos superficiales. En este caso se fabrican del mismo modo pero se utilizan agujas entomológicas de acero inoxidable más largas, tanto como sea necesario para alcanzar el área anatómica investigada. Para ello se realizan estudios anatómicos previos a fin de identificar la zona de proyección ósea y la profundidad de la misma (**Figuras 10. 10. a y 10. 10. b**).

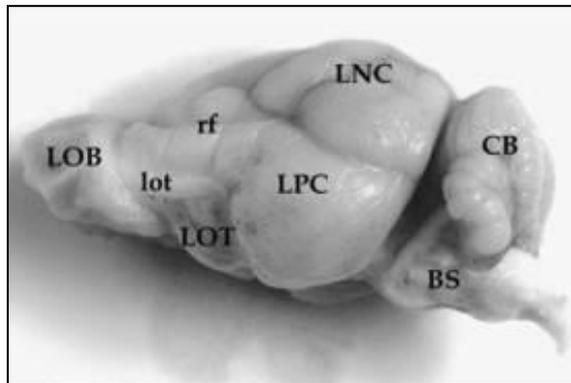
Se cuenta además con un aparato estereotáxico construido por David Koopf (New York) (**Figura 10. 11.**). Este cuenta con un micromanipulador en torre que permite introducir el electrodo profundo hasta el lugar deseado mediante un centrador, cuya función es facilitar la ubicación exacta de las coordenadas “X”, “Y” y “Z”, en cuyo cruce se introduce el electrodo.

Se utilizaron *C. villosus* machos y hembras. Los mismos pertenecían a la Colonia de Armadillos y Marsupiales del Instituto de Neurociencia. Todos ellos adultos y adaptados a las condiciones de cautividad del bioterio y con un ayuno de 12 horas.



**Figura 10. 10. a.**

Fotografía de un corte sagital de cerebro de *C. villosus* donde se observan varias de las estructuras neurológicas en estudio. Este material se utiliza para determinar las áreas de proyección ósea de las mismas y de este modo elegir la mejor vía quirúrgica de abordaje (modificado de Benítez y col., 1994).



**Figura 10. 10. b.**

Fotografía de una vista lateral izquierda de un cerebro de *C. villosus* disecado de su caja ósea. Se observan varias de las estructuras neurológicas en estudio. Este material se utiliza para determinar las áreas de proyección ósea de las mismas (gentileza Dr. C. Cervino).



**Figura 10.11.**

Fotografía de un aparato estereotáxico con torre, similar al utilizado para la implantación de electrodos profundos.

Se realizó una higienización completa del animal.

Los animales se encontraban bajo anestesia profunda, se utilizó una anestesia balanceada ya descrita en el capítulo correspondiente.

Se realizó una cuidadosa desinfección del escudete cefálico óseo y su vecindad con iodopovidona al 10 % y se procede luego a marcar en su superficie la zona a incidir.

Se los colocaron en posición decúbito ventral sobre la mesa de operaciones y se envolvió todo el cuerpo con una bolsa plástica que además de cumplir la función de paño de campo, ayudó a la termorregulación de los sujetos

El acto quirúrgico de implantación de electrodos profundos en el *C. villosus* se realizó con instrumental y material estéril y requirió un procedimiento que se realizó en tiempos intraoperatorios.

🕒 **Primer tiempo a Cuarto tiempo:**

Se repiten los pasos realizados en la **Implantación de electrodos craneales superficiales**.

🕒 **Quinto tiempo:**

Diéresis del plano óseo. Mediante estudios anatómicos previos, se marca el área de proyección craneana de las estructuras del sistema nervioso central (SNC) en estudio, en este caso el lóbulo piriforme. Se perfora el cráneo en el punto señalado con una fresa de cabeza redonda (diámetro 0,25 mm) montada en el torno ya descrito, hasta dejar expuesta las meninges.

🕒 **Sexto tiempo.**

Diéresis de las meninges. Se divulsionan las meninges con pinza y tijera como las utilizadas en cirugía oftalmológica, generando un ojal.

🕒 **Séptimo tiempo:**

Implante y fijación de los electrodos de registro. Se traslada al animal al estereotáxico y se lo fija acorde a las prácticas habituales. Se monta en la torre el electrodo a implantar. Se coloca el centrador sobre la herida quirúrgica realizada en el hueso y las meninges. Mediante el micromanipulador se lleva el electrodo al punto deseado utilizando las coordenadas “X”, “Y” y “Z” determinadas por estudios anatómicos previos. Se sella el orificio óseo y al mismo tiempo queda fijado el electrodo con acrílico y resina. Se debe cuidar que los elementos selladores no eluyan dentro de la cavidad craneana y lesionen los delicados tejidos subyacentes. Si fuese necesario se coloca previamente muy pequeños trozos de esponja hemostática reabsorbible de gelatina (Spongostán®) para

que esto no ocurra. Se repite este procedimiento tantas veces como electrodos se deseen implantar (**Figura 10. 12. a.** y **10. 12. b.**).

🕒 **Sexto tiempo**

Conexión de los electrodos a la ficha y fijación de la estructura. Se sueldan los cables de los electrodos a la ficha hembra fijada primeramente. Se la cubre con acrílico para reforzar la seguridad del dispositivo. Se cubren y fijan los electrodos implantados y toda la zona vecinal con acrílico y resina, con el fin de asegurar el área y mantener a todo el conjunto aislado eléctricamente y de la humedad ambiente.



**Figura 10. 12. a.**

Fotografía donde se observa en primer plano la torre con el centrador y el micromanipulador y en segundo plano la herida quirúrgica de un ejemplar de *C. villosus* colocado en el estereotáxico.



**Figura 10. 12. b.**

Fotografía donde se observa de cerca el campo quirúrgico de la intervención de Implantación de electrodos profundos en un *C. villosus*. En primer plano se puede ver el centrador con un electrodo montado y en proceso de colocación. A la izquierda del centrador se observa un electrodo ya colocado y fijado (se identifica el cable verde que soldado al electrodo).

🕒 **Fin de la intervención quirúrgica.**

Se limpió y desinfectó la herida quirúrgica y el campo con agua oxigenada de 10 volúmenes (uso medicinal) y solución de iodopovidona al 10%. Se colocó aerosol a base de productos cicatrizantes y antibióticos (ej.: tetraciclina). Los tejidos expuestos se cubrieron con sacarosa para inhibir la proliferación de microorganismos y ayudar a una rápida granulación.

### **Cuidados posquirúrgicos.**

Se realizó control, limpieza y desinfección de la herida en forma diaria o cada dos días hasta la cicatrización total. Se utilizó para tal fin una solución de iodopovidona y se continuó con la colocación de sacarosa.

En los primeros días puede haber tejido necrosado en exceso, en tales casos se le remueve el tejido con instrumental quirúrgico, en condiciones asépticas y bajo sedación con el protocolo ya mencionado en el **Capítulo 5: condiciones de alojamiento (Tabla 10.I)**. Las drogas se administran en la misma jeringa.

Se aplicó medicación analgésica, antiinflamatoria y antibiótica inyectable según el protocolo detallado en las **Tablas 10. II. y 10. III.**

En la medicación con corticoides se combinó uno de acción inmediata y uno de acción prolongada por la dificultad de administración durante los días no laborables. La medicación antibiótica se administró cada 48 hs. por ser una sal de depósito.

### **Resultados y consideraciones finales.**

Todos los animales presentaron una recuperación satisfactoria tanto a la anestesia como al procedimiento quirúrgico. No se observaron respuestas clínicas indeseables a la administración simultánea de corticoides y antiinflamatorios no esteroideos (**AINES**), los animales no presentaron decaimiento, ni regurgitación y todos presentaron normofagia; por lo que no fue necesario el uso de Ranitidina como protector gástrico.

La administración relativamente prolongada de corticoides fue diseñada en función de disminuir la respuesta inflamatoria y el edema a la manipulación local. Durante este tiempo relativamente prolongado de administración no se observaron efectos indeseables como poliuria y polidipsia en los animales en estudio.

La medicación antibiótica elegida, más las adecuadas curaciones antiséptica y la apropiada asepsia del campo quirúrgico se combinaron para obtener un posquirúrgico sin

procesos infecciosos importantes que pusieran en riesgo la vida del animal ni el desarrollo de la experiencia.

Los animales fueron utilizados para estudios histológicos de la zona quirúrgica a fin de confirmar la exactitud y rigurosidad de la intervención. Los mismos fueron anestesiados sin recuperación y perfundidos con soluciones fijadoras de los tejidos siguiendo las normas de anestesia y eutanasia recomendadas internacionalmente (CCAC, 1998 f).

### **10. 3. 7. EXTIRPACIÓN DE GANGLIO CERVICAL ANTERIOR** **(GANGLIOTOMÍA CERVICAL CRANEAL ANTERIOR)**

#### **Introducción.**

La utilización de los Armadillos como Animales de Laboratorio No Tradicionales ha tenido gran importancia en el avance científico de diferentes áreas de la biomedicina como la infectología, la embriología, la endocrinología, la farmacología y la neurología entre otras.

En el caso de la neurobiología, con el objeto de estudiar las implicancias de la extirpación del ganglio cervical craneal, se ha tomado al armadillo *C. villosus*, como modelo experimental. Su ubicación taxonómica permite plantear hipótesis de importancia al respecto. Además la particular rusticidad de esta especie dentro del grupo, garantiza el diseño de cirugías innovadoras al respecto.

Las vísceras y los vasos de la cabeza reciben su inervación simpática por medio del ganglio cervical craneal. El músculo dilatador pupilar contiene fibras radiales inervadas por nervios simpáticos del ganglio cervical craneal; la contracción de estas fibras produce midriasis (aumento del diámetro pupilar).

Del ganglio cervical craneal parten las fibras simpáticas postganglionares para los dos primeros nervios cervicales y para los nervios craneanos (**Figura 10. 13.**).

Los impulsos nerviosos provenientes del estímulo visual de luz/oscuridad abandonan el SNC como fibras simpáticas preganglionares que hacen sinapsis en el ganglio cervical craneal y entran en la glándula pineal para estimular pinealocito. La respuesta de esta célula consiste en la liberación de melatonina al torrente sanguíneo.

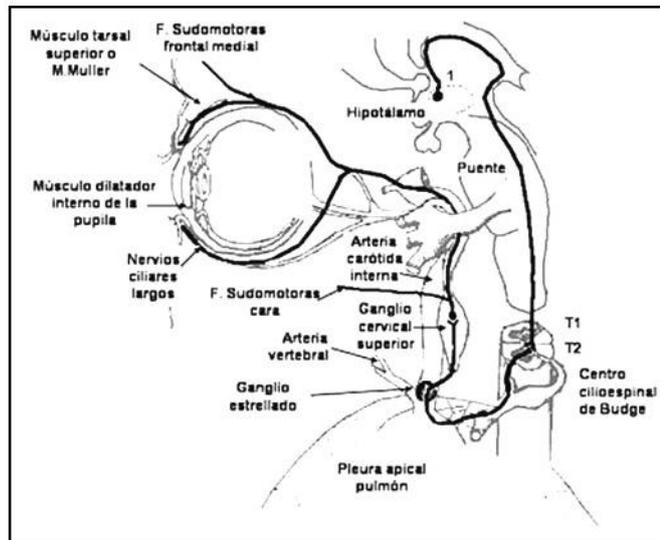
Resumiendo, resulta atractivo el estudio del ganglio cervical anterior por:

- La relación entre este ganglio y la glándula pineal.

- La relación entre la glándula pineal y la producción y periodicidad cíclica de melatonina.

Dado que *C. villosus* se caracteriza por:

- la ausencia de glándula pineal y
- la presencia de un ritmo circadiano de melatonina,



**Figura 10. 13.**

Esquema que muestra las relaciones y vecindades del Ganglio Cervical Anterior y el recorrido de la vía simpática (Pizarro y col. 2006).  
es sumamente interesante profundizar el estudio del citado ganglio en este armadillo para establecer que otras estrategias fisiológicas pueden desarrollar los organismo en la particular relación entre la glándula pineal y la producción de melatonina.

### **Técnica quirúrgica**

Se utilizaron *C. villosus* machos y hembras. Los mismos pertenecían a la Colonia de Armadillos y Marsupiales del Instituto de Neurociencia. Todos ellos adultos y adaptados a las condiciones de cautividad del bioterio y con un ayuno de 12 horas.

Se realizó una higienización completa del animal.

Los animales se encontraban bajo anestesia profunda, se utilizó una anestesia balanceada ya descrita en el capítulo correspondiente.

Se realizó una prolija tricotomía de la zona primero y una antisepsia con solución de iodopovidona al 10 % después.

El animal se colocó en posición decúbito lateral contrapuesto a la zona de abordaje sobre la mesa de operaciones y se colocó el campo quirúrgico en forma de bolsa tubular dejando la cabeza y miembros posteriores por fuera de la misma, con fenestración en el

área quirúrgica, así quedó cubierta la mayor parte del cuerpo con una bolsa plástica que además de cumplir la función de paño de campo, ayudó a la termorregulación del sujeto.

Se dispuso un cojín de arena a lo largo de la línea dorsal del caparazón para estabilizar el equilibrio del cuerpo durante la manipulación. Colocando la cabeza y el cuello en extensión quedó expuesta la región cervical ventrolateral homolateral al ganglio a extirpar.

El acto quirúrgico de ablación del ganglio simpático cervical craneal, uni o bilateral, requirió un procedimiento que se realizó en tiempos intraoperatorios.

El procedimiento de exéresis propiamente dicho se realizó bajo microscopio quirúrgico OPMI Zeiss 6-5.

#### 🕒 **Primer tiempo.**

Diéresis de piel. La diéresis de la piel se efectuó con bisturí sobre una línea que se traza sobre la cara ventral del cuello entre el gonion y la línea medio clavicular. Subyacente a la piel se observa la presencia del lóbulo de la glándula. Este último se reclinó en sentido medial conjuntamente con el labio homónimo de la incisión. Sobre el sector lateral de la misma se identifica la vena yugular externa que en su porción craneal recibe una tributaria del lóbulo glandular.

#### 🕒 **Segundo tiempo.**

Identificación y disección de las estructuras anatómicas contiguas al ganglio. Por divulsión roma se clivaron los tabiques intermusculares entre los músculos hipobranquiales (infrahioideos) y el braquicefálico (esternocleidomastoideo) hasta alcanzar la arteria carótida primitiva y el tronco del nervio vago que la acompaña dorsalmente. Medialmente al paquete vásculo-nervioso del cuello, sobre el plano de los músculos prevertebrales, se encuentra el conectivo simpático cervical y medialmente al gonion se observa el ganglio simpático cervical craneal.

Durante este tiempo pueden ocurrir algunas hemorragias que se cohiben rápidamente por compresión.

#### 🕒 **Tercer tiempo**

Exéresis del ganglio. Previamente a la realización de la extirpación del ganglio simpático cervical anterior se deben separar la arteria carótida primitiva y el nervio neumogástrico, liberando posteriormente de tejido conectivo circundante al ganglio simpático cervical anterior. Una vez aislado se procede a la sección de su pedículo **craneal y posteriormente el pedículo caudal.**

🕒 **Cuarto tiempo.**

Síntesis de los planos profundos. Se efectuó mediante dos técnicas diferentes:

- a. En los 2 primeros animales operados se rellenaron los “espacios muertos” dejados por la divulsión roma de los planos musculares con esponja hemostática reabsorbible de gelatina (Spongostán®) y se colocaron puntos de afrontamiento entre los distintos grupos musculares utilizando hilo de sutura de nylon monofilamento 3-0 y aguja 3/8 de círculo de 20 mm.
- b. Al resto de los animales intervenidos (6) no se les colocó esponja hemostática ni se realizaron puntos de afrontamiento entre los grupos musculares divulsionados.

🕒 **Quinto tiempo.**

Síntesis del planos subcutáneo. Se realizaron varios puntos interrumpidos, de afrontamiento en “X” abarcando el tejido celular subcutáneo y la subdermis con hilo de nylon 3-0 y aguja 3/8 de círculo de 20 mm o 25 mm, con el objeto de disminuir la tensión de la sutura de piel que se realizaría a continuación.

🕒 **Sexto tiempo.**

Sutura de piel. La piel se suturó con hilo de nylon monofilamento 2-0 y aguja recta, con puntos perforantes discontinuos en “U” horizontal.

🕒 **Fin de la intervención quirúrgica.**

Se limpió y desinfectó la herida quirúrgica y el campo con agua oxigenada de 10 volúmenes (uso medicinal) y solución de iodopovidona al 10%. Se colocó aerosol a base de productos cicatrizantes y antibióticos (ej.: tetraciclina).

**Cuidados posquirúrgicos:**

Se realizó control, limpieza y desinfección de la herida en forma diaria hasta la cicatrización total. Se utilizó una solución de iodopovidona y agua oxigenada en partes iguales para la limpieza diaria.

Se aplicó medicación analgésica, antiinflamatoria y antibiótica inyectable según el protocolo detallado en las **Tablas 10. II. y 10. III.**

En la medicación con corticoides se combinó uno de acción inmediata y uno de acción prolongada por la dificultad de administración durante los días no laborables.

La medicación antibiótica se administró cada 48 hs. por ser una sal de depósito.

Se retiraron los puntos a las dos semanas de la intervención quirúrgica.

## **Resultados y discusión:**

Todos los animales presentaron una recuperación satisfactoria tanto a la anestesia como al procedimiento quirúrgico. La cicatrización se concretó sin complicaciones en un plazo de 6 a 7 días.

No hubo diferencias clínicas observables entre los grupos animales con diferente resolución de los “espacios muertos”.

No se observaron respuestas clínicas indeseables a la administración simultánea de corticoides y antiinflamatorios no esteroideos (**AINES**), los animales no presentaron decaimiento, ni regurgitación y todos presentaron normofagia; por lo que no fue necesario el uso de Ranitidina como protector gástrico.

La administración relativamente prolongada de corticoides fue diseñada en función de disminuir la respuesta inflamatoria y el edema a la manipulación local perineuronal y al trauma neuronal de extirpación. Durante este tiempo relativamente prolongado de administración no se observaron efectos indeseables como poliuria y polidipsia en los animales en estudio.

La medicación antibiótica elegida, más las adecuadas curaciones antiséptica y la apropiada asepsia del campo quirúrgico se combinaron para obtener un posquirúrgico sin procesos infecciosos indeseables.

Como resultado de esta intervención y como era esperable, se produjo la aparición del síndrome de parálisis del simpático ocular (Síndrome de Claude Bernard-Horner) (Kawasaki 2000), cuya signología completa se caracteriza por la presencia de una tríada ocular propia y una serie de fenómenos acompañantes (López y Mellado, 2000):

- Miosis paralítica con reflejos pupilares normales (la instilación de coacaina no dilata la pupila en los síndromes periféricos)
- Ptosis simpática, estrechamiento de la abertura palpebral por la parálisis de de la porción lisa del elevador del párpado superior y elevación del párpado inferior
- Enoftalmos o hundimiento del bulbo ocular en la órbita por parálisis del músculo de Müller, relajación y prolapso del cuerpo clignotante en una posición fija que cubre parte del bulbo ocular

No fueron evidentes, quizás por la dificultad de evaluación los

- Signos acompañantes:
  - o Anhidrosis (disminución de la sudoración de la cara)
  - o Dilatación retardada de la pupila al estímulo luminoso

- o Heterocromía (alteración de la pigmentación del iris)

No era esperable observar vasodilatación, aumento de la temperatura ni parálisis de los músculos de la región rostral, ya que las fibras eferentes simpáticas vasomotoras y pilomotoras de la cara emergen del ganglio estrellado.

### **10. 3. 8. EXTIRPACIÓN DE GLÁNDULA DE HARDER (HARDERECTOMÍA).**

#### **Introducción:**

Las glándulas subconjuntivales, en los mamíferos, se distribuyen en dos grupos de glándulas exocrinas. Un grupo incluye la Glándula de Harder (**GH**) y la Glándula Nictitante (**GN**), que se encuentran en el ángulo interno de la cavidad ocular. En el ángulo externo se encuentra el otro, compuesto por la Glándula Lagrimal (**GL**) (Sakai, 1981, 1989, 1992; Payne, 1994).

La luz ejerce efectos sobre la secreción de melatonina de forma dosis-dependiente, sincronizando el ritmo circadiano de su secreción (Lewy y col., 1980).

La luz fototransducida en las células ganglionares de la retina intrínsecamente fotosensibles (**ipCGR**) (Freedman y col. 1999), es conducida a través del tracto retinohipotalámico (**TRH**) al núcleo supraquiasmático del hipotálamo (**NSQ**), principal reloj circadiano de los mamíferos (Moore y col., 1995), que conecta la retina con la glándula pineal a través de una vía neural multisináptica (Larsen y col., 1998).

La melatonina es una hormona sintetizada y segregada por la glándula pineal con una periodicidad circadiana (Reiter, 1991). La administración de melatonina, una hormona relacionada con los ritmos biológicos, es utilizada actualmente para contrarrestar los problemas ocasionados por el *jet-lag* y el insomnio. Hay evidencias de que actúa en el **SNC** a nivel del sistema **GABAérgico**. La melatonina ha sido conocida clásicamente como la hormona de la glándula pineal. Sin embargo hoy se sabe de la existencia de fuentes extrapineales de producción: la retina, la glándula de Harder y el intestino son capaces de sintetizar esta sustancia (Aldana Marcos y col., 1996 b; Aldana Marcos y Affanni, 2005).

Estudios realizados en nuestro Instituto demostraron la ausencia de glándula pineal aparente en este animal Benítez y col., 1994). Es por ello que el armadillo *C. villosus* se presenta como un modelo experimental excelente para el estudio de estas fuentes extrapineales de melatonina (Affanni y col., 1996 b; Affanni y col., 2008).

Otros estudios, realizados también en el Instituto de Neurociencia, demuestran que la melatonina aparece como un poderoso instrumento capaz de modificar la actividad olfatoria. Se sugiere que la descarga de la glándula de Harder a través del conducto nasolacrimal es uno de los mecanismos por el cual la melatonina llega a la **MO** (Affanni y Cervino, 1996 y 1998 b; Affanni y col., 2008).

A la luz de las experiencias anteriores resultaba interesante estudiar la producción y ritmo circadiano de la melatonina en ausencia de fuentes extrapineales de la misma. Es por ello que se diseñó una técnica para la extirpación de la Glándula de Harder en el armadillo *C. villosus*.

La Glándula de Harder es la estructura glandular más grande en la órbita ósea del *C. villosus*. Está situada en la región anteroventral de la órbita. No se observan evidentes diferencias estructurales entre hembras y machos. La glándula está compuesta de ramas túbulo-alveolar, se caracteriza por tener una sola capa de células columnares rodeada por células mioepiteliales. Posee un conducto excretor único abierto en el canto interno. Presenta una forma de medialuna con concavidad dorsal que abraza, por ventral, el tracto óptico (Aldana Marcos y Affanni, 2005).

Debido a esta particular ubicación, la vía de abordaje a la glándula resultaba muy complicada. Otros cirujanos experimentales habían intentado la ablación de la Glándula de Harder en el armadillo mediante diversas técnicas, incluso hasta llegar a la enucleación total del globo ocular (observación y comunicaciones personales). Sin embargo las mismas resultaban muy cruentas y mutilantes, dejando al sujeto experimental con serias deficiencias funcionales que hacían poco confiables los resultados posteriormente obtenidos. Una de esas deficiencias era la ausencia de estímulo lumínico en los animales con enucleación ocular, teniendo en cuenta la importancia que tiene las aferencias visuales en la fisiología de la melatonina.

Estos resultados poco alentadores nos estimularon a la búsqueda de intervenciones quirúrgicas más conservadoras para resolver esta cuestión. En colaboración con el Méd. Vet. Ricardo Abello, encargado de la sección de estudios morfológicos de nuestro Instituto, nos dispusimos a encontrar una vía de abordaje más adecuada a estos fines.

Como paso preliminar se prepararon 5 cabezas de animales fijados por perfusión intracardíaca, a través de la aorta, con una solución de formol al 10 % en solución fisiológica. Previamente los animales fueron anestesiados sin recuperación bajo las normas recomendadas internacionalmente.

En algunas de estas piezas se extrajo la parte de tejidos blandos para dejar expuesta sólo la base ósea. En otras preparaciones se conservó intactos la masa muscular y demás tejidos de protección. Se procedió a establecer que estructuras óseas debían atravesarse para llegar a la parte anterior de la ósea del globo ocular, lugar donde asienta el borde rostral de la glándula de Harder en le *C. villosus*.

Luego se realizó el mismo procedimiento para resolver el camino a través de las partes blandas.

Una vez establecida la vía de abordaje en lo referente a los tejidos blandos y el hueso se planteó la cuestión de cómo resolver el escollo que representa en los armadillos el escudete óseo cefálico para las intervenciones quirúrgicas craneanas.

La vía de abordaje más adecuada resultó ser muy lateralizada, apenas por sobre el borde dorsal del párpado superior. El escaso espacio existente entre el mismo y el borde lateral del escudete hace imposible penetrar por allí. La técnica de fenestración del escudete utilizada en la bulbectomía resultaba muy medial para este caso. La extirpación total del escudete resultaba muy cruenta, dejando la cabeza del animal sin una importantísima protección tanto mecánica y física como antimicrobiana.

Se decidió entonces emplear un método innovador que aunaba otras experiencias en cirugía traumatológica o de tejidos duros con técnicas de colgajos: que consiste en realizar colgajos (“flaps”) bilaterales que conservaran su pedículo vascular del escudete. Estos colgajos son de borde medial convexo próximos al extremo lateral del escudete y se despegan de los huesos craneanos con los tejidos blandos subyacente con el objeto de conservar la vascularización del escudete cefálico.

Las condiciones de cautividad, tipos de jaulas utilizadas, alimentación y cuidados generales, ya fueron descriptos en otras ocasiones (Iodice, 1987, Iodice y Affanni, 1988 b) y en el **Capítulo 5: condiciones de alojamiento** de la presente tesis.

### **Técnica quirúrgica**

Se utilizaron *C. villosus* machos y hembras. Los mismos pertenecían a la Colonia de Armadillos y Marsupiales del Instituto de Neurociencia. Todos ellos adultos y adaptados a las condiciones de cautividad del bioterio y con un ayuno de 12 horas.

Se realizó una higienización completa del animal.

Los animales se encontraban bajo anestesia profunda, se utilizó una anestesia balanceada ya descripta en el capítulo correspondiente.

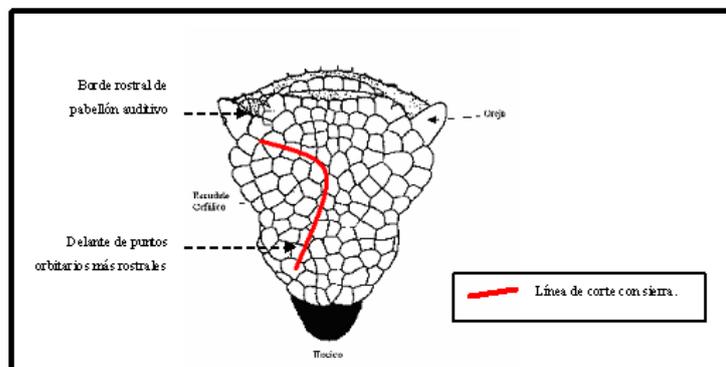
Se los colocaron en posición decúbito ventral sobre la mesa de operaciones y se envolvió todo el cuerpo con una bolsa plástica que además de cumplir la función de paño de campo, ayudó a la termorregulación de los sujetos

Se realizó previamente una cuidadosa desinfección del escudete cefálico óseo y su vecindad con iodopovidona al 10 % y se procede a marcar en su superficie la zona a incidir.

El acto quirúrgico de extirpación de la Glándula de Harder (Hardectomía) en el *C. villosus* se realizó con instrumental y material estéril y requirió un procedimiento que se realizó en tiempos intraoperatorios.

#### 🕒 **Primer tiempo.**

Diéresis del escudete cefálico. Con ayuda de un torno de 15000 RPM y una cierra circular de 22 mm de diámetro, se realiza un corte sobre el escudo cefálico de borde curvo con convexidad medial y un radio aproximado de 2 a 2,5 cm. Como límite caudal del corte se utiliza el plano transversal que pasa tangencialmente al borde rostral de ambos pabellones auditivos y como límite oral un plano transversal que pasa unos milímetros delante de ambos puntos orbitarios más rostrales (**Figura 10. 14.**).



**Figura 10. 14.**

Ubicación de los planos de referencia para efectuar el corte del escudete cefálico en la Hardectomía de *C. villosus*.

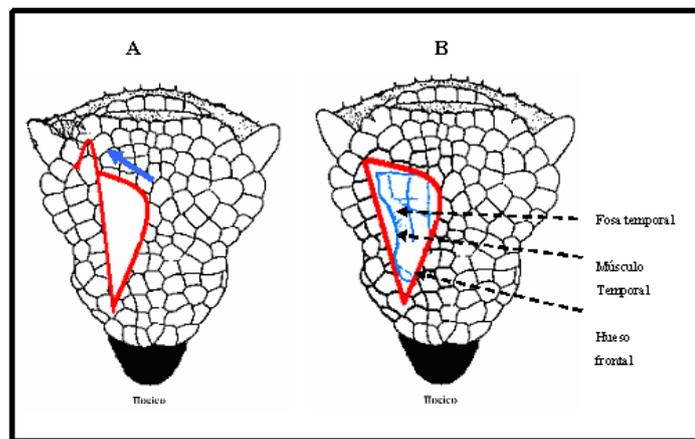
#### 🕒 **Segundo tiempo.**

Obtención del colgajo. Se procede a levantar el tejido óseo del escudete cefálico conjuntamente con los tejidos blandos subyacentes con ayuda de una legra delicada. El desprendimiento del colgajo se realiza de medial a lateral, con el menor ángulo posible

para no desprenderlo de su normal irrigación. Elevando el borde medial del colgajo, se alcanzan los tejidos blandos que se unen al borde lateral del escudete, queda expuesta así la totalidad de la herida quirúrgica (**Figura 10. 15. A**). En ella se puede observar caudalmente la fosa temporal y rostralmente el hueso frontal (**Figura 10. 15. B**).

⌚ **Tercer tiempo.**

Despeje del plano óseo. Se desinserta parcialmente el músculo temporal de la pared de la fosa homónima a los efectos de dejar al descubierto el sector caudal del cono formado por los músculos periorculares. Con legrado suave se despeja una mayor superficie del hueso frontal (**Figura 10. 15. B**).



**Figura 10. 15.**

Visión de la hemi herida quirúrgica para la Hardectomía unilateral en *C. villosus*. **A**: El colgajo se eleva de medial a lateral y es rebatido levemente hacia lateral de la cabeza (indicado con flecha). **B**: Por debajo del colgajo se observan los tejidos blandos y las referencias anatómicas necesarias para continuar con los siguientes tiempos (no se ha dibujado el colgajo para facilitar la visualización).

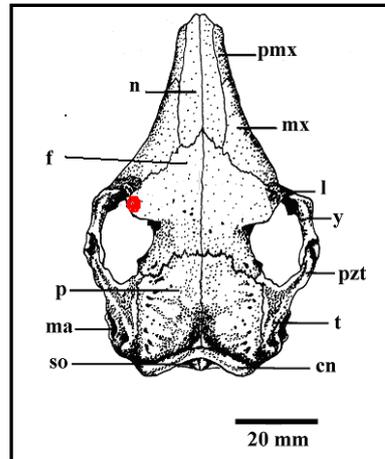
⌚ **Cuarto tiempo.**

Diéresis del primer plano óseo. Con el mencionado tormo y una fresa esférica de 3 mm de diámetro se realiza una fenestración triangular en el hueso frontal hasta llegar a la cavidad de los turbinales etmoidales (**Figura 10. 16**). Dicha fenestración resulta de 6 a 7 mm de lado y limita lateralmente con el borde supraorbitario, medialmente por una línea paralela a la sutura interparietal y su borde rostral esta dado por el plano transversal que pasa por ambos puntos orbitarios más orales.

⌚ **Quinto tiempo.**

Limpieza de la cavidad etmoidal. Se remueve el tejido de los etmoturbinados subyacentes para dejar libre la pared ósea rostral de la cavidad orbitaria.

Simultáneamente se va procediendo a la hemostasia por compresión de los pequeños vasos sangrantes de los turbinales.



**Figura 10. 16.**

Esquema de la cabeza de *C. villosus* mostrando la disposición de los diferentes huesos. Se muestra en color rojo el punto de abordaje para el primer plano óseo en la Harderectomía unilateral. El mismo se encuentra en lateo oral del hueso frontal, cerca de la unión con el zigomático.

**cn:** cresta nugal. **f:** frontal. **l:** lagrimal. **mx:** maxilar.

**ma:** meato auditivo externo. **n:** nasal. **p:** parietal.

**pmx:** premaxilar. **pzt:** proceso zigomático.

**so:** supraoccipital. **t:** temporal. **y:** yugal.

(Modificado de Squarcia y col., 1993).

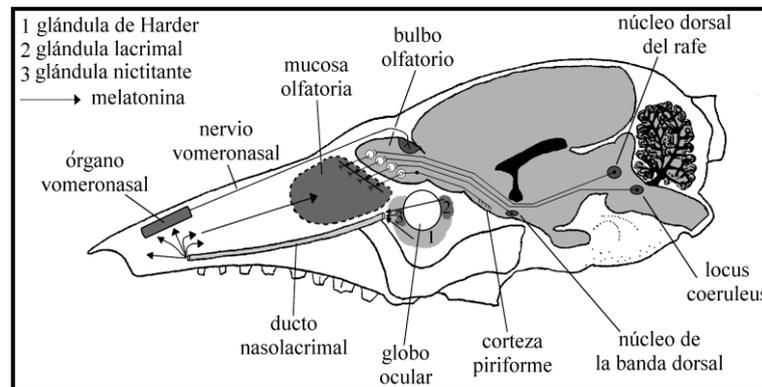
#### 🕒 **Sexto tiempo.**

Diéresis del segundo plano óseo. Con el mencionado torno y fresa se efectúa una pequeña fenestración en la pared ósea anterior de la órbita para acceder a la cavidad orbitaria y encontrar allí el borde rostral de la glándula de Harder.

#### 🕒 **Séptimo tiempo.**

Exéresis de la glándula de Harder. La glándula de Harder se encuentra rodeando ventralmente al cono de músculos perioculares y al nervio óptico, adopta una disposición en forma de medialuna triangular con su cuerpo en posición ventral. Sus dos extremos se disponen dorsolateralmente (rostral y caudal) y su cuerpo situado ventralmente y orientado hacia el foramen óptico (**Figura 10. 17.** y **Figura 10. 18.**). Una vez arribado al espacio retrocular se procede a la identificación de la glándula utilizando un microscopio quirúrgico (OPMI Zeiss 6-5) y se utilizan pinzas y tijeras oftalmológicas para su remoción. Se utilizan como referencia para iniciar la divulsión de la glándula de Harder caudalmente el nervio lagrimal y rostralmente el músculo oblicuo dorsal. En relación con el músculo oblicuo dorsal se identifica el borde rostral

de la glándula de Harder, mediante divulsión roma en dirección ventrocaudal se separa la misma del músculo oblicuo dorsal y de los tejidos vecinos, teniendo especial cuidado al llegar a la parte más próxima al plano sagital de no lesionar el nervio óptico que discurre por la zona. En relación con el nervio lagrimal se identifica el borde caudal de la glándula que también se libera delicadamente por divulsión roma en dirección ventrorostral hasta alcanzar el plano de clivaje anterior. Una vez liberada de sus adherencias se la extrae por uno de sus extremos ejerciendo un suave movimiento de “vaivén”.



**Figura 10. 17.**

Esquema donde se observa una visión lateral de la ubicación de la glándula de Harder, estructuras vecinas y conexiones en el *C. villosus*. (Affanni et al., 2008).

🕒 **Octavo tiempo.**

Síntesis de los planos óseos. La fenestración ósea del hueso frontal se obtura con esponja hemostática reabsorbible de gelatina (Spongostán®).

🕒 **Noveno tiempo.**

Síntesis de los planos superficiales. Previamente a la fijación de los colgajos se coloca en el campo quirúrgico un catéter de drenaje fenestrado preparado con un tubo de silastic que emerge por ambos extremos laterales de la diéresis. El colgajo de escudete se restaura a su posición y se colocan a ambos lados de la línea quirúrgica en forma apareada un total de seis tornillos de acero inoxidable de 12 mm de largo y 3 mm de grosor, 3 en cada borde de la herida. Previa a su colocación se efectúan pequeños orificios con el citado torno y una fresa esférica de 2 mm de diámetro, en ellos se ajustan los tornillos. Estos unen entre sí a ambos lados de la línea quirúrgica con alambre de acero inoxidable maleable de uso quirúrgico. Se coloca resina epoxi con amina terciaria, que acelera su consolidación., siguiendo la línea de los alambres y

reforzando en cada cabeza de tornillo. Esta sutura es totalmente original y la denominamos **fijación externa con tutores metálicos** (Figura 10.19.). Surge de hacer una analogía con la osteosíntesis de huesos largos con fijación externa.

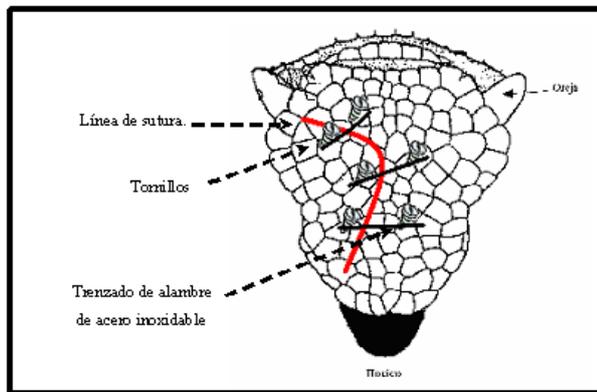
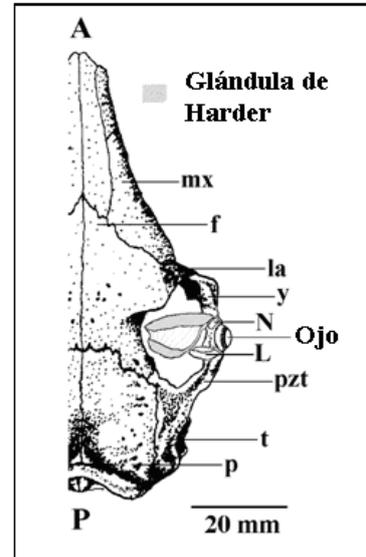
**Figura 10. 18.**

Esquema donde se observa una visión cráneo-dorsal de la ubicación de la glándula de Harder y estructuras vecinas en el *C. villosus*. (Aldana Marcos y col., 2003).

A: anterior.  
P: posterior.  
N: glándula nictitante.  
L: glándula lagrimal.

**Huesos:**

**mx:** maxilar;  
**f:** frontal;  
**la:** lagrimal;  
**y:** yugal;  
**pzt:** porción zigomática del temporal;  
**t:** temporal;  
**p:** parietal



**Figura 10. 19.**

Visión de la **fijación externa con tutores metálicos** en el escudete cefálico de *C. villosus*. En rojo: línea de sutura. Por sobre el trenzado de alambre quirúrgico de acero inoxidable y abarcando las cabezas de los tornillos se deposita la resina epoxi con amina terciaria.

🕒 **Fin de la intervención quirúrgica.**

Se limpió y desinfectó la herida quirúrgica y el campo con agua oxigenada de 10 volúmenes (uso medicinal) y solución de iodopovidona al 10%. Se colocó aerosol a base de productos cicatrizantes y antibióticos (ej.: tetraciclina). La línea de unión de los bordes

incididos del escudete se cubrió con sacarosa para inhibir la proliferación de microorganismos y ayudar a una rápida granulación.

### **Cuidados posquirúrgicos:**

Se realizó control, limpieza y desinfección de la herida en forma diaria o cada dos días hasta la cicatrización total. Se utilizó para ello una solución de iodopovidona y agua oxigenada en partes iguales.

Se aplicó medicación analgésica y antiinflamatoria en forma inyectable y medicación antibiótica en forma inyectable y oral combinada según se detalla en los protocolos de la **Tabla 10. II.** y la **Tabla 10. VI.** Las drogas inyectables se administraron en la misma jeringa.

**Tabla 10.VI.**

Drogas, dosis y vía de inoculación utilizados como terapia antibiótica posquirúrgica en *C. villosus*.

<b>Fármaco</b>	<b>Concentración</b>	<b>Dosis</b>	<b>Vía de administración</b>	<b>Frecuencia de administración</b>
<b>Penicilina G procaínica y G benzatínica + dihidroestreptomicina</b>	10.000 UI/mL + 10.000 UI/mL + 200 mg/mL	0,5 mL totales	IM	Cada 48 horas durante 14 días
<b>Trimetoprima, Sulfametoxazole y Bencidamina</b>	1 % 1 % 0,7 % (en polvo)	5 g / L en agua de bebida	Oral	Diariamente <i>ad-libitum</i> , desde el día 15.

Se retiró el dispositivo de fijación externa a las 3 ½ semanas, bajo sedación con el protocolo utilizado en otras ocasiones (**Tabla 10.I.**). Las drogas se administraron en la misma jeringa.

La medicación con corticoides se realizó combinando un fármaco de acción inmediata y uno de acción prolongada por la dificultad de administración durante los días no laborables.

Se priorizó la aplicación de corticoides por sobre la de antiinflamatorios no esteroideos con el fin de evitar el inevitable edema resultante de la manipulación de los tejido periorbitales.

La medicación antibiótica inyectable se administró cada 48 hs. por ser una sal de depósito.

La solución antibiótica – antiinflamatoria se administró desde el día 15 y hasta 5 días después de retirar el dispositivo de fijación externa, con el objeto de proteger de infección hasta cicatrizar totalmente los pequeños orificios dejados por los tornillos.

### **Resultados y consideraciones finales:**

Todos los animales presentaron una recuperación satisfactoria tanto a la anestesia como al procedimiento quirúrgico. La cicatrización se concretó sin complicaciones.

No se observaron respuestas clínicas indeseables a la administración simultánea de corticoides y antiinflamatorios no esteroideos (**AINES**), los animales no presentaron decaimiento, ni regurgitación y todos presentaron normofagia; por lo que no fue necesario el uso de Ranitidina como protector gástrico.

La administración relativamente prolongada de corticoides fue diseñada en función de disminuir la respuesta inflamatoria y el edema a la manipulación local perineuronal y al trauma neuronal de extirpación. Durante este tiempo relativamente prolongado de administración no se observaron efectos indeseables como poliuria y polidipsia en los animales en estudio.

La medicación antibiótica elegida, más las adecuadas curaciones antiséptica y la apropiada asepsia del campo quirúrgico se combinaron para obtener un posquirúrgico sin procesos infecciosos detectables.

El uso de antibióticos más analgésicos en forma oral es un hallazgo y puesta en práctica del autor. Esta metodología llena un espacio muchas veces olvidado por los investigadores como es el tratamiento analgésico posquirúrgico de largo plazo.

Los animales intervenidos no tuvieron complicaciones indeseables, mantuvieron la integridad anatómica y funcional de la visión y pasaron a formar parte de la segunda etapa experimental relativa al ritmo de producción de melatonina desarrollada por otro grupo de trabajo del Instituto.

#### **10. 4. ZARIGÜEYAS.**

---

Como ya se ha dicho a lo largo de esta Tesis, la utilización de Animales de Laboratorio No Tradicionales en experimentación biomédica ha permitido redescubrir verdaderas maravillas adaptativas en lo que respecta a la anatomía y la fisiología. También ha servido para abordar situaciones experimentales de difícil resolución usando sólo Animales de Laboratorio Tradicionales.

El caso de las Zarigüeyas es un muy buen ejemplo de lo antedicho. Este grupo de animales ha tenido gran importancia en el avance científico de diferentes áreas de la biomedicina como la infectología, la embriología, la endocrinología, la gastroenterología, la epidemiología y la neurología entre otras.

En el caso concreto de la neurología, la particular ubicación taxonómica de las Zarigüeyas y sus características neuroanatómicas “casi-reptilianas” permiten plantear hipótesis de importancia al respecto.

Sólo nombrando su cerebro mamífero lisencefálico, el enorme desarrollo del tracto olfatorio y la ausencia de cuerpo calloso, queda en evidencia la importancia de este modelo en la investigación neurobiológica.

Además, *Didelphis albiventris* presenta una particular rusticidad dentro del grupo, lo que la hace un apropiado modelo experimental que garantiza el diseño de cirugías innovadoras en esta área biomédica.

Se describen las intervenciones quirúrgicas que fueron realizadas como parte de diversos proyectos de investigación de diferentes grupos de científicos tanto del INEUCI como de otras instituciones científicas. El autor de esta Tesis intervino en el diseño y desarrollo de todas estas cirugías.

- ★ **implante de electrodos superficiales.**
- ★ **sección de Pedúnculos Olfatorios (PO).**
- ★ **extirpación de Bulbos Olfatorios (BO).**
- ★ **pancreatitis experimental. Sección bilateral del nervio esplácnico (esplancnectomía).**
- ★ **pancreatitis experimental. Sección del nervio vago (vagotomía troncular).**

#### **10. 4. 1. IMPLANTACIÓN DE ELECTRODOS CRANEALES SUPERFICIALES.**

##### **Introducción.**

El registro de la actividad bioeléctrica cerebral es una herramienta insustituible en la investigación neurofisiológica. Permite evaluar el funcionamiento de diversas estructuras cerebrales en condiciones basales de reposo, en vigilia o sueño, y durante diversas activaciones (apnea, hiperpnea, estimulación luminosa, entre otras). La actividad bioeléctrica (actividad nerviosa cerebral) puede ser detectada mediante electrodos colocados adecuada y estratégicamente en la superficie craneana de los individuos para su estudio. Mediante procedimientos quirúrgicos experimentales adecuados se puede estudiar la actividad bioeléctrica de los bulbos olfatorios, el tubérculo olfatorio, el área piriforme y el neocortex frontal, entre otras estructuras encefálicas. También tiene relevancia la influencia de los órganos de los sentidos sobre los fenómenos hípnicos y en vigilia, procesos que han sido objeto de relativa menor atención por parte de los investigadores. Reviste una particular importancia investigar la influencia de la aferencia olfatoria sobre algunos fenómenos del sueño lento y paradójico (Affanni y Cervino, 1998 a).

Las modificaciones de la actividad bioeléctrica se pueden estudiar mediante una transducción de la señal recibida y el registro y posterior análisis de la misma mediante programas adecuados. Estos estudios permiten realizar un análisis espectral de potencia. La actividad normal del **EEG** está constituida por una actividad de base o de fondo, a la que se adiciona una actividad funcional o transitoria. La actividad de base se caracteriza por ritmos u ondas de forma y duración similar. Estos ritmos se definen de acuerdo a su frecuencia (número de ciclos u oscilaciones completas por unidad de tiempo) y amplitud (magnitud de los cambios de voltaje), expresados en hertz (**Hz**) y microvoltios (**μV**). (Riquelme, 1995; Holliday y Williams, 1999)

Los potenciales electrocorticográficos registrados desde puntos simétricos de ambas cortezas son simétricos en forma, amplitud y duración. La función que cumple el cuerpo calloso en esta simetría ha sido demostrado que es primordial (Claes, 1939; Berlucchi, 1966). El cerebro de mamíferos como monotremas y zarigüeyas no posee cuerpo calloso (Kappers y col., 1960).

Es por ello que el estudio de la actividad bioeléctrica cerebral y la ausencia o presencia de dicha simetría resulta paradigmática desde el punto de vista evolutivo de la neurobiología. También es de vital importancia un confiable registro de actividad

bioeléctrica basal para hacer a frente futuras experiencias de sección o ablación de las comisuras telencefálicas (Affanni y Morita, 1968).

El desarrollo de una técnica quirúrgica confiable y repetible para encarar estos trabajos ha sido una de las preocupaciones del autor de esta Tesis. Por lo que a continuación se desarrolla y detalla un procedimiento quirúrgico experimental que facilita los estudios al respecto.

### **Técnica quirúrgica**

Las características de los electrodos y los diferentes sistemas de registro de la actividad bioeléctrica cerebral han sido similares a los utilizados en Armadillos, que ya fueron descritos con anterioridad y pueden verse en la **Figura 10. 1**.

Se utilizaron *D. albiventris* machos y hembras. Los mismos pertenecían a la Colonia de Armadillos y Marsupiales del Instituto de Neurociencia. Todos ellos adultos y adaptados a las condiciones de cautividad del bioterio y con un ayuno de 12 horas.

Los animales se encontraban bajo anestesia profunda, se utilizó una anestesia balanceada ya descrita en el capítulo correspondiente.

Se realizó una cuidadosa tricotomía y desinfección de la zona craneal y su vecindad con iodopovidona al 10 %.

Se los colocaron en posición decúbito ventral sobre la mesa de operaciones y se envolvió todo el cuerpo con una bolsa plástica, dejando expuesta sólo la cabeza, que además de cumplir la función de paño de campo, ayudó a la termorregulación de los sujetos

El acto quirúrgico de implantación de electrodos superficiales en *D. albiventris* se realizó con instrumental y material estéril y requirió un procedimiento que se realizó en tiempos intraoperatorios.

#### **🕒 Primer tiempo:**

Diéresis de la piel. Se efectúa la diéresis de la piel con bisturí. La incisión se realiza sobre la línea media dorsal de la cabeza siguiendo las suturas interparietales e interfrontales, desde la cresta del postparietal (o supraoccipital) aboralmente, hasta el borde aboral de la sutura internasal oralmente (constricción interorbital). Se divulsiona con tijera Metzelbaum curva roma el tejido subcutáneo, y se debrida suavemente los bordes de piel de la herida, dejando expuesta las importantes masas musculares del

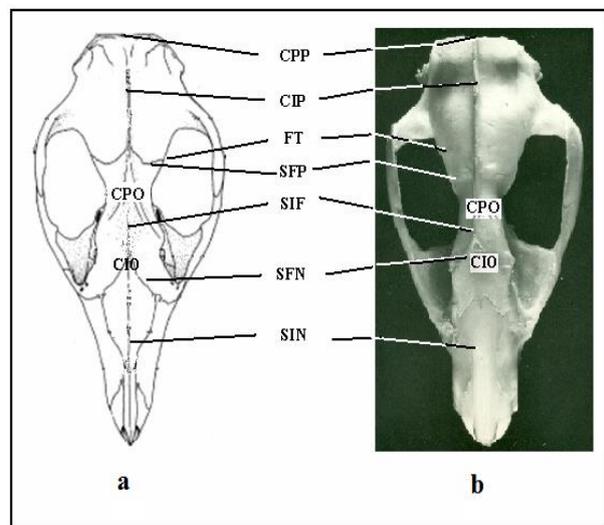
temporal derecha e izquierda que se insertan a ambos lados de la cresta de la sutura interparietal Figura 10. 19. a y b).

⌚ **Segundo tiempo:**

Desinserción de los músculos temporales. Con legra pequeña y tijera Metzelbaum curva roma, mediante movimientos suaves se van desinsertando los músculos temporales de la cresta de la sutura interparietal. Rebatando las masas musculares hacia ambos laterales con el fin de dejar limpios y expuestos la mayor parte de los huesos parietales y frontales.

**Figura 10.19.**

**a:** esquema del cráneo. **b:** foto de cráneo. Se pueden observar los accidentes óseos que sirven de guía para la diéresis quirúrgica. **CPP:** Cresta del postparietal (o supraoccipital: **CSO**). **CIP:** Cresta de la sutura interparietal. **FT:** Fosa de los músculos temporales derecho e izquierdo. **CPO:** Constricción postorbital. **CIO:** Constricción interorbital. **SFP:** sutura frontoparietal. **SIF:** sutura interfrontal. **SFN:** sutura frontonasal. **SIN:** Sutura internasal. (Modificado de McManus, 1974; Lemos y Cerqueira, 2002).



Se completa el trabajo con la legra y el frote con gasa estéril. Se procede a la hemostasia por compresión de los vasos sangrantes.

Este procedimiento no sólo permite dejar el campo despejado para la implantación de los electrodos, sino que desplaza los músculos del campo quirúrgico a fin de que no contaminen el futuro registro con actividad bioeléctrica muscular (miograma). Con gasa se limpian bien los huesos del cráneo, librándolos de restos de tejido blando y proponiendo un campo bien seco para poder implantar correctamente los electrodos y lograr una buena fijación del implante. Una técnica más antigua indicaba la resección de parte de los músculos temporales. Este procedimiento, además aumentaba la injuria, generaba profusas hemorragias en el campo que llevaban mucho tiempo cohibir y encharcaban el campo quirúrgico. Rebatando bien hacia lateral los músculos y colocando unos puntos de fijación lateral si fuese necesario se mejoró la técnica.

🕒 **Tercer tiempo:**

Implante de ficha de conexión. Con el precedentemente citado torno de 15000 RPM y una fresa de cabeza redonda (diámetro 2,2 mm) montada en el mismo, se realizaron dos perforaciones en la cresta del hueso postparietal, una en cada lateral (**Figura 10. 20.**). Aquí se fijará la ficha de conexión con alambres quirúrgicos de acero inoxidable (2 a 3 mm de diámetro). Este anclaje de la ficha impedirá que la misma quede adherida sólo a los cables de los electrodos implantados, agitándose suelta, expuesta a rotura o desconexión por golpes en el posquirúrgico.

🕒 **Cuarto tiempo:**

Implante de electrodos de registro. Mediante estudios anatómicos previos, se establecen las áreas de proyección craneana de las estructuras del **SNC** en estudio (**Figura 10.21.**) Se marcan con punzón tantos puntos como electrodos se deseen colocar sobre los **BO** derecho e izquierdo en el hueso frontal encima y por delante de la cisura postorbital (**CPO**) y sobre la neocorteza (**NC**) anterior y posterior en vecindad de la sutura frontoparietal (**SFP**) parietales (**Figura 10. 20.**). Utilizando una pinza de disección se colocan a presión los electrodos anteriormente fabricados en los puntos marcados. Si los electrodos fueron hechos con tornillos, se perfora el cráneo en los puntos señalados, hasta la meninge, con una fresa de cabeza redonda (diámetro 0,25 mm), y luego se los atornillan. En el hueso frontal, en lateral de su tercio oral, a la altura de la constricción interorbital se realiza un orificio con torno y fresa de 2 mm para la fijación de un tornillo que se usará como referencia a tierra en los registros (**Figura 10. 20.**).

**Figura 10.20.**

Se muestra la ubicación de los sitios de colocación de la ficha en la cresta del hueso postparietal y de los electrodos para el registro de la actividad bioeléctrica de los bulbos olfatorios (**BO**) y la neocorteza (**NC**) en *D. albiventris*.

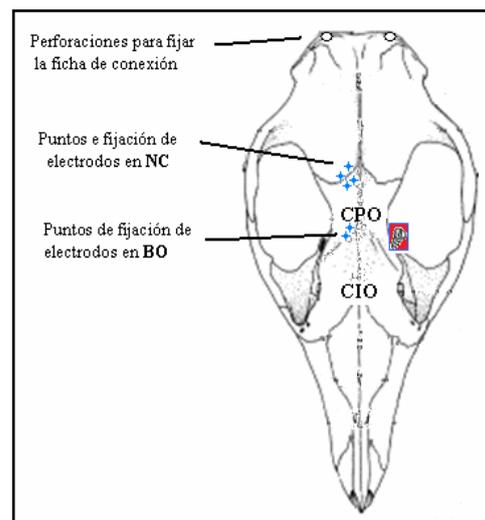
**CPO:** constricción postorbital.

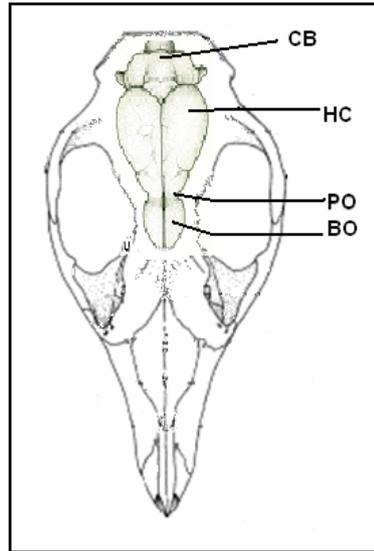
**CIO:** constricción interorbital.



Tornillo para referencia a tierra en el hueso frontal.

(Modificado de McManus, 1974 y Lemos y Cerqueira, 2002).





**Figura 10. 21.**

Esquema que muestra la proyección de las estructuras anatómicas de pedúnculos olfatorios (PO) y bulbos olfatorios (BO) sobre la superficie craneana en *D. albiventris*. CB: cerebelo. HC: hemisferios cerebrales. (Modificado de McManus, 1974 y Lindemann y Campos, 2003).

🕒 **Quinto tiempo.**

Conexión de los electrodos a la ficha y fijación de la estructura. Se sueldan los cables de los electrodos a la ficha hembra fijada primeramente. Se la cubre con acrílico para reforzar la seguridad del dispositivo. Se cubren y fijan los electrodos implantados y toda la zona vecinal con acrílico y resina, con el fin de asegurar el área y mantener a todo el conjunto aislado eléctricamente y de la humedad ambiente.

🕒 **Sexto tiempo.**

Sutura de piel. Se realiza una sutura de afrontamiento de los bordes de la piel dejando espacio para la limpieza del tejido de granulación que se formará durante el posquirúrgico en los “bolsillos” que se forman entre la piel y el dispositivo de registro implantado. Se suturó con hilo de nylon monofilamento 2-0 y aguja recta atraumática, con puntos perforantes discontinuos en “U” horizontal.

🕒 **Fin de la intervención quirúrgica.**

Se limpió y desinfectó la herida quirúrgica y el campo con una solución de Iodopovidona al 10 % o Cloruro de Benzalconio al 0,5 % en forma indistinta. Se colocó aerosol a base de productos cicatrizantes y antibióticos (ej.: tetraciclina). Los tejidos expuestos se cubrieron con sacarosa para inhibir la proliferación de microorganismos y ayudar a una rápida granulación.

### **Cuidados posquirúrgicos.**

Se realizó control, limpieza y desinfección de la herida en forma diaria o cada dos días hasta la cicatrización total. Se utilizó para tal fin una solución de Iodopovidona Cloruro de Benzalconio al 0,5 % y se continuó con la colocación de sacarosa.

En los primeros días puede haber tejido necrosado en exceso, en tales casos se le remueve el tejido con instrumental quirúrgico, en condiciones asépticas y bajo sedación con el protocolo ya mencionado en el **Capítulo 5: condiciones de alojamiento (Tabla 10. I.)**. Las drogas se administran en la misma jeringa.

Se aplicó medicación analgésica, antiinflamatoria y antibiótica inyectable según el protocolo detallado en las **Tablas 10. II. y 10. III.**

En la medicación con corticoides se combinó uno de acción inmediata y uno de acción prolongada por la dificultad de administración durante los días no laborables. La medicación antibiótica se administró cada 48 hs. por ser una sal de depósito.

### **Resultados y consideraciones finales.**

Todos los animales presentaron una recuperación satisfactoria tanto a la anestesia como al procedimiento quirúrgico. La cicatrización nunca es total mientras permanece la “torre” del dispositivo permanente de registro.

Una técnica utilizada antiguamente indicaba la resección de parte de los músculos temporales. Este procedimiento, además aumentar la injuria, generaba profusas hemorragias en napa que llevaban mucho tiempo cohibir y encharcaban el campo quirúrgico. El procedimiento descrito en este trabajo indica que, rebatiendo bien hacia lateral los músculos y colocando unos puntos de fijación lateral si fuese necesario, se mejoró la técnica.

No se observaron respuestas clínicas indeseables a la administración simultánea de corticoides y antiinflamatorios no esteroideos (**AINES**), los animales no presentaron decaimiento, ni regurgitación y todos presentaron normofagia; por lo que no fue necesario el uso de Ranitidina como protector gástrico.

La administración relativamente prolongada de corticoides fue diseñada en función de disminuir la respuesta inflamatoria y el edema a la manipulación local. Durante este tiempo relativamente prolongado de administración no se observaron efectos indeseables como poliuria y polidipsia en los animales en estudio.

La medicación antibiótica elegida, más las adecuadas curaciones antiséptica y la apropiada asepsia del campo quirúrgico se combinaron para obtener un posquirúrgico sin procesos infecciosos importantes que pusieran en riesgo la vida del animal ni el desarrollo de la experiencia.

Algunos ejemplares fueron utilizados para estudios histológicos de la zona quirúrgica a fin de confirmar la exactitud y rigurosidad de la intervención. Los mismos fueron anestesiados sin recuperación y perfundidos con soluciones fijadoras de los tejidos siguiendo las normas de anestesia y eutanasia recomendadas internacionalmente (CCAC, 1998. f).

Algunos implantes se desprendieron espontáneamente alrededor de las 4 meses de colocados. Tras lo cual completaron la cicatrización de piel en forma natural. El tejido subyacente mostraba signos granulación, lo cual nos sugiere que el desprendimiento se produce como reacción de los tejidos injuriados en su proceso de reparación.

Los animales que no fueron requeridos para estudios histológicos y no se les desprendió espontáneamente el dispositivo, fueron desimplantados bajo los protocolos anestésicos ya descritos, y suturada la piel con hilo de nylon monofilamento 2-0 y aguja recta atraumática, con puntos perforantes discontinuos en “U” horizontal. La herida de piel cicatrizó en un plazo no mayor de 7 días. Todos los animales recuperados permanecieron en la Colonia en perfecto estado y con la herida quirúrgica cicatrizada.

#### **10.4.2. SECCIÓN DE PEDÚNCULOS OLFATORIOS**

##### **Introducción.**

El sentido del olfato es de fundamental importancia para la vida de los animales y del hombre. Desde el punto de vista filogenético, es uno de los sentidos más antiguos y la mayoría de las estructuras cerebrales se modelaron alrededor del mismo. Su función es detectar alimentos, predadores y parejas sexuales, al tiempo que advierte sobre el estado de conservación de los alimentos y sobre la presencia de sustancias químicas perjudiciales (Affanni, 2006).

Hay varios hechos que reflejan la crucial importancia del olfato. Entre ellos se pueden citar:

- La extraordinaria cantidad de información genética dedicada a él (Zhang y Firestein, 2002).

- Las numerosas fibras centrífugas con diferentes neurotransmisores que llegan a los bulbos olfatorios. Estas fibras se originan en una llamativa diversidad de regiones cerebrales. Por eso, el sistema olfatorio es uno de los más controlados y modulados por el cerebro (Kratskin, 1995).
- La difusión, dispersión, e interconexión de las conexiones centrales del nervio olfatorio (Affanni y Cervino, 2005).

Estos hechos sugieren que todavía pueden ser identificadas nuevas funciones, no estrictamente relacionadas con la detección y discriminación de olores (Affanni, 2006).

Desde hace muchos años se viene utilizando este modelo experimental en estudios neurofisiológicos del tracto olfatorio (Affanni y Vaccarezza, 1964; Vaccarezza y Affanni, 1964; Affanni y Morita, 1968; Vaccarezza y Affanni, 1966 b; Affanni y col. 1967; Affanni y col. 1968b; Affanni, 1972; Affanni y García Samartino, 1970 y 1984). Las investigaciones se han realizado mediante estudios efectuados tanto en los estados fisiológicos de vigilia como de sueño y han tenido por objeto contribuir al conocimiento de la influencia en el cerebro cuando se lesiona el sistema olfatorio:

- Por eliminación de los receptores olfatorios.
- Por la interrupción de las conexiones entre el bulbo olfatorio y el resto del cerebro.
- Lesiones de algunas estructuras que intervienen en el procesamiento de las señales olfatorias (tracto olfatorio lateral, comisura anterior, tubérculos olfatorios y corteza piriforme)

La investigación de las interacciones entre el sistema olfatorio y el resto del cerebro es una de las principales metas del Instituto de Neurociencia. El desarrollo de un ajustado procedimiento quirúrgico experimental, tanto en la manipulación de las regiones en estudio como en la implantación de electrodos superficiales permitirá mejorar las investigaciones futuras al respecto.

### **Técnica quirúrgica**

Se utilizaron *D. albiventris* machos y hembras. Los mismos pertenecían a la Colonia de Armadillos y Marsupiales del Instituto de Neurociencia. Todos ellos adultos y adaptados a las condiciones de cautividad del bioterio y con un ayuno de 12 horas.

Los animales se encontraban bajo anestesia profunda, se utilizó una anestesia balanceada ya descrita en el capítulo correspondiente.

Se realizó una cuidadosa tricotomía y desinfección de la zona craneal y su vecindad con iodopovidona al 10 %.

Se los colocaron en posición decúbito ventral sobre la mesa de operaciones y se envolvió todo el cuerpo con una bolsa plástica, dejando expuesta sólo la cabeza, que además de cumplir la función de paño de campo, ayudó a la termorregulación de los sujetos

El acto quirúrgico de la sección de pedúnculos olfatorios en *D. albiventris* se realizó con instrumental y material estéril y requirió un procedimiento que se realizó en tiempos intraoperatorios.

🕒 **Primer tiempo.**

Diéresis de piel. Se repiten los procedimientos realizados en la implantación de electrodos craneales superficiales.

🕒 **Segundo tiempo.**

Desinserción de los músculos temporales. Se repiten los procedimientos realizados en la implantación de electrodos craneales superficiales.

🕒 **Tercer tiempo.**

Diéresis del plano óseo. Mediante estudios anatómicos previos se establece la zona de proyección anatómica del tracto olfatorio anterior (**Figura 10. 21**). Con una fresa de cabeza redonda (diámetro 0,25 mm), se perfora el hueso frontal en forma paramediana, en su tercio aboral, por detrás de la **CPO** y cercano a la sutura con los huesos parietales. Este abordaje se realiza en uno de hemicráneos por vez, dependiendo si la intervención sea uni o bilateral. Ésta es la zona de proyección ósea de los **PO** (**Figura 10. 22**). Se agranda y profundiza la perforación hasta dejar expuestas las meninges.

🕒 **Cuarto tiempo.**

Diéresis de las meninges. Se divulsionan las meninges con pinza y tijera como las utilizadas en cirugía oftalmológica, generando un ojal a la altura de los **PO**.

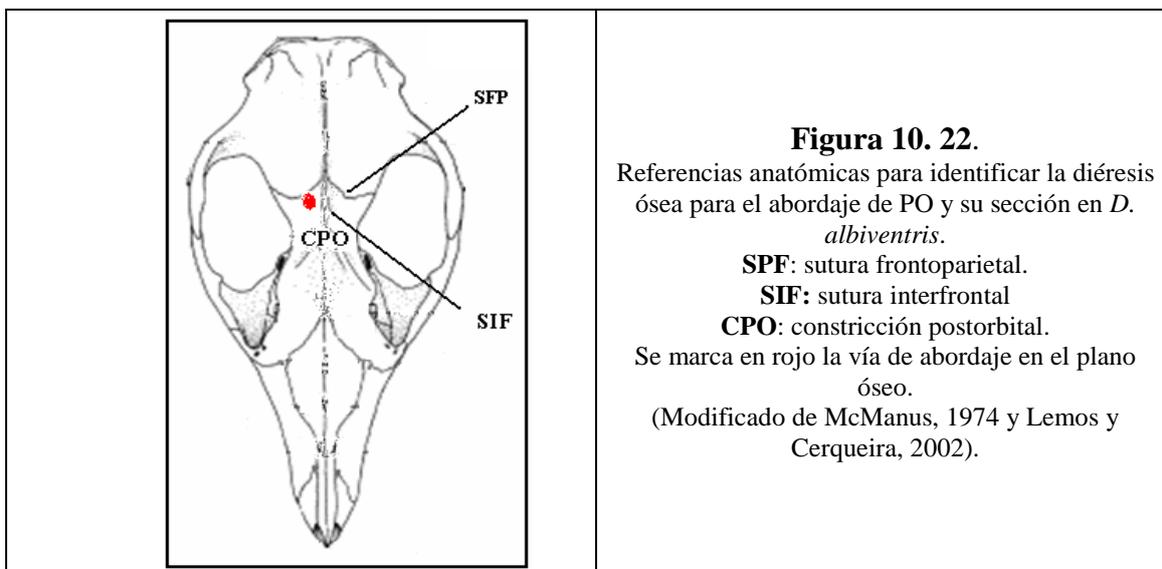
🕒 **Quinto tiempo.**

Sección del pedúnculo olfatorio (**PO**). Se visualiza la estructura correspondiente a los **PO**. Se introduce por la fenestración ósea una espátula de acero inoxidable de punta redonda y roma en sentido perpendicular a la línea media y con una leve inclinación aboral-oral respecto al plano antero posterior de la cabeza. Se hunde hasta sentir el piso del cráneo y con movimientos laterales se secciona al **PO**, con la precaución de no

seccionar los vasos mayores que irrigan al **BO** y no lesionar los senos venosos que se encuentran la vecindad.

🕒 **Sexto tiempo.**

Implante de ficha de conexión. Se repiten los procedimientos realizados en la implantación de electrodos craneales superficiales.



🕒 **Séptimo tiempo**

Implante de electrodos de registro. Se repiten los procedimientos realizados en la implantación de electrodos craneales superficiales.

🕒 **Octavo tiempo.**

Conexión de los electrodos a la ficha y fijación de la estructura. Se repiten los procedimientos realizados en la implantación de electrodos craneales superficiales.

🕒 **Noveno tiempo.**

Síntesis de la diéresis ósea. Una vez terminada la implantación de electrodos y en el momento de realizar la fijación y consolidación de los electrodos con acrílico y resina se coloca una placa de acetato sobre la ventana ósea realizada para la sección de los **PO**, con el fin de sustituir la porción de hueso eliminado.

🕒 **Décimo tiempo.**

Sutura de piel. Se repiten los procedimientos realizados en la implantación de electrodos craneales superficiales.

🕒 **Fin de la intervención quirúrgica.**

Se limpió y desinfectó la herida quirúrgica y el campo quirúrgico con una solución de Iodopovidona al 10 % o Cloruro de Benzalconio al 0,5 %. Se colocó aerosol a base de productos cicatrizantes y antibióticos (ej.: tetraciclina). Los tejidos expuestos se cubrieron con sacarosa para inhibir la proliferación de microorganismos y ayudar a una rápida granulación.

### **Cuidados posquirúrgicos.**

Se realizó control, limpieza y desinfección de la herida en forma diaria o cada dos días hasta la cicatrización total. Se utilizó para tal fin una solución de Iodopovidona Cloruro de Benzalconio al 0,5 % en forma indistinta y se continuó con la colocación de sacarosa.

En los primeros días puede haber tejido necrosado en exceso, en tales casos se le remueve el tejido con instrumental quirúrgico, en condiciones asépticas y bajo sedación con el protocolo ya mencionado en el **Capítulo 5: condiciones de alojamiento (Tabla 10. I.)**. Las drogas se administran en la misma jeringa.

Se aplicó medicación analgésica, antiinflamatoria y antibiótica inyectable según el protocolo detallado en las **Tablas 10. II. y 10. III.**

En la medicación con corticoides se combinó uno de acción inmediata y uno de acción prolongada por la dificultad de administración durante los días no laborables. La medicación antibiótica se administró cada 48 hs. por ser una sal de depósito.

### **Resultados y consideraciones finales**

Todos los animales presentaron una recuperación satisfactoria tanto a la anestesia como al procedimiento quirúrgico. La cicatrización nunca es total mientras permanece la “torre” del dispositivo permanente de registro.

No se observaron respuestas clínicas indeseables a la administración simultánea de corticoides y antiinflamatorios no esteroideos (**AINES**), los animales no presentaron decaimiento, ni regurgitación y todos presentaron normofagia; por lo que no fue necesario el uso de Ranitidina como protector gástrico.

La administración relativamente prolongada de corticoides fue diseñada en función de disminuir la respuesta inflamatoria y el edema a la manipulación local. Durante este tiempo relativamente prolongado de administración no se observaron efectos indeseables como poliuria y polidipsia en los animales en estudio.

La medicación antibiótica elegida, más las adecuadas curaciones antiséptica y la apropiada asepsia del campo quirúrgico se combinaron para obtener un posquirúrgico sin procesos infecciosos importantes que pusieran en riesgo la vida del animal ni el desarrollo de la experiencia.

Los ejemplares fueron utilizados para estudios histológicos de la zona quirúrgica a fin de confirmar la exactitud y rigurosidad de la intervención. Los mismos fueron anestesiados sin recuperación y perfundidos con soluciones fijadoras de los tejidos siguiendo las normas de anestesia y eutanasia recomendadas internacionalmente (CCAC, 1998. f).

### **10. 4. 3. EXÉRESIS DE LOS BULBOS OLFATORIOS (BULBECTOMIA OLFATORIA).**

#### **Introducción.**

El sistema olfatorio presenta características peculiares muy relevantes desde el punto de vista neurobiológico. Se pueden encontrar numerosos datos en el libro “Handbook of Olfaction and Gustation”, editado por Doty (1995). Affanni (2006) ha descrito un conjunto de particulares del sistema olfatorio que merecen especial atención, entre ellas sobresalen algunas como:

- Las neuronas olfatorias son las únicas que están en contacto directo con el ambiente. Las variaciones de parámetros ambientales pueden afectar profundamente.
- Las neuronas receptoras olfatorias se regeneran continuamente durante toda la vida adulta (neurogénesis continua). Este es un hecho extraordinario de gran importancia en las ciencias biomédicas. Significa que las neuronas olfatorias y sus precursores son agentes que presumiblemente guardan el secreto de una de las más grandes esperanzas de la medicina: la posibilidad de inducir la formación de nuevas neuronas. La persistencia de neurogénesis y la generación de nuevos contactos neuronales (sinaptogénesis) a lo largo de toda la vida indican que el sistema olfatorio es un extraordinario modelo experimental para el estudio de la producción de nuevas neuronas.
- Las neuronas del bulbo olfatorio y del hipocampo, conectadas con las neuronas receptoras olfatorias, también se regeneran durante toda la vida.

- Las neuronas receptoras olfatorias tienen la extraordinaria capacidad de transportar diversos materiales desde la cavidad nasal hasta varias regiones del cerebro. La capacidad de las neuronas olfatorias para transportar materiales de diversa naturaleza (metales, toxinas, virus y proteínas) está perfectamente demostrada (Ferreira-Moyano y Barragán, 1994). En consecuencia, el cerebro aparece como altamente vulnerable a través de esta vía.
- La estimulación del sistema olfatorio es extraordinariamente eficaz en la evocación de recuerdos.
- El sistema olfatorio, junto con el gustativo, participa en la producción del notable fenómeno de aprendizaje de aversión a los olores. De hecho, basta una única exposición a ese tipo de asociación para que la aversión pueda persistir a lo largo de toda una vida.
- Hay interacción entre el sistema olfatorio y los esteroides exógenos. Esto fue demostrado por modificaciones del tamaño de los testículos, de la testosterona sérica y de la espermatogénesis (Anand Kumar y col., 1980)

Affanni (2006), ha referido también las funciones no específicas del sistema olfatorio:

- Cita por ejemplo a Herrick (1933) como el primero en sugerir que las conexiones centrales del sistema olfatorio, que son “*característicamente difusas, ampliamente dispersas, e interconectadas*”, indicaban funciones no específicas.
- Vaccarezza, junto al mismo Affanni (1966a y 1968), suministran la primera evidencia experimental de funciones no específicas del bulbo olfatorio. Demuestran en la zarigüeya, que los bulbos olfatorios están involucrados en la regulación del sueño. La sección transversal completa de los pedúnculos olfatorios, operación que separa los bulbos del resto del cerebro, produce notables cambios en los patrones del sueño, especialmente en el Sueño Paradójico (ver también Affanni y Cervino, 2005).
- Cain (1974) propuso que el bulbo olfatorio estaba involucrado en un sistema despertador prosencefálico, compuesto principalmente por el hipotálamo y el sistema límbico.
- Más tarde, Shepherd y col. (1981) planteó que el sistema olfatorio no es un sistema sino varios. De acuerdo con este autor, esa pluralidad suministra variadas combinaciones de sus conexiones, que colaboran en el control de diferentes tipos de comportamiento.

Las funciones no específicas pueden estudiarse de diferentes maneras. Una de ellas consiste en la estimulación crónica de los receptores olfatorios seguida por la observación de efectos no específicos. Sin embargo, la rápida aparición de fenómenos de adaptación representa un serio inconveniente. Otra forma es la privación olfatoria. En marcado contraste con la estimulación, la privación olfatoria ofrece la posibilidad de suprimir el olfato durante largos períodos sin interferencia adaptativa. Es apropiado pensar que, para la investigación de las funciones no específicas, se necesita un estudio detallado de los efectos funcionales de la privación olfatoria crónica. Esta búsqueda de hacerse no solamente durante la vigilia sino también durante el sueño, incluyendo la aplicación de estímulos despertadores durante ese último estado (Affanni, 2006).

El diseño y desarrollo de procedimientos quirúrgicos experimentales, tanto en la manipulación de las regiones en estudio como en la implantación de electrodos superficiales permitirá mejorar las investigaciones futuras al respecto.

Como se observará, a diferencia de lo descrito en *C. villosus*, se detalla en forma independiente la exéresis de los **BO** con respecto a la sección de los **PO**. Esto resulta así por la diferencia anatómica existente para estas estructuras anatómicas en ambas especies. En *D. albiventris* los **PO** son más largos, por lo que se requiere para ambas intervenciones quirúrgicas dos vías de abordajes diferentes y no una única como en *C. villosus* por el corto trayecto de sus **PO**.

### **Técnica quirúrgica**

Se utilizaron *D. albiventris* machos y hembras. Los mismos pertenecían a la Colonia de Armadillos y Marsupiales del Instituto de Neurociencia. Todos ellos adultos y adaptados a las condiciones de cautividad del bioterio y con un ayuno de 12 horas.

Los animales se encontraban bajo anestesia profunda, se utilizó una anestesia balanceada ya descrita en el capítulo correspondiente.

Se realizó una cuidadosa tricotomía y desinfección de la zona craneal y su vecindad con iodopovidona al 10 %.

Se los colocaron en posición decúbito ventral sobre la mesa de operaciones y se envolvió todo el cuerpo con una bolsa plástica, dejando expuesta sólo la cabeza, que además de cumplir la función de paño de campo, ayudó a la termorregulación de los sujetos

El acto quirúrgico de la exéresis de los bulbos olfatorios en *D. albiventris* se realizó con instrumental y material estéril y requirió un procedimiento que se realizó en tiempos intraoperatorios.

🕒 **Primero tiempo.**

Diéresis de piel. Se repiten los procedimientos realizados en la implantación de electrodos craneales superficiales.

🕒 **Segundo tiempo.**

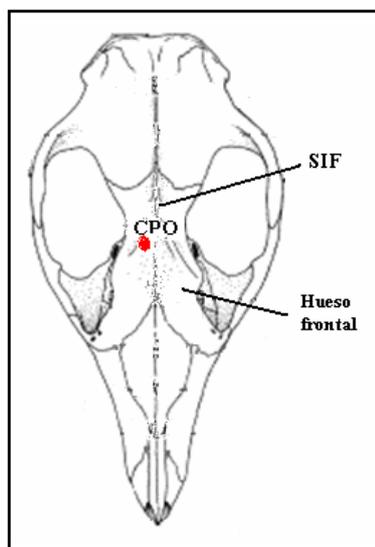
Desinserción de los músculos temporales. Se repiten los procedimientos realizados en la implantación de electrodos craneales superficiales.

🕒 **Tercer tiempo:**

Diéresis del plano óseo. Mediante estudios anatómicos previos se establece la zona de proyección anatómica del tracto olfatorio anterior (**Figura 10. 21**). Con una fresa de cabeza redonda (diámetro 0,25 mm), se perfora el hueso frontal en forma paramediana, en su tercio medio y tercio aboral, a la altura de la constricción postorbital (**CPO**). Ésta es la zona de proyección ósea de los **BO** (**Figura 10. 23**). Este abordaje se realiza en uno de hemicráneos por vez, dependiendo si la intervención sea uni o bilateral. Se agranda y profundiza la perforación hasta dejar expuestas las meninges.

🕒 **Cuarto tiempo.**

Diéresis de las meninges. Se divulsionan las meninges con pinza y tijera como las utilizadas en cirugía oftalmológica, generando un ojal sobre los **BO**.



**Figura 10. 23.**

Referencias anatómicas para identificar la diéresis ósea para el abordaje de **BO** y su remoción en *D. albiventris*.

**SIF:** sutura interfrontal

**CPO:** constricción postorbital.

Se marca en rojo el sitio de la vía de abordaje en el plano óseo.

(Modificado de McManus, 1974 y Lemos y Cerqueira, 2002).

🕒 **Quinto tiempo**

Exéresis de los **BO**. Se realiza con una bomba de aspiración de baja presión para no dañar los tejidos circundantes. Se visualiza la estructura correspondiente a los **BO**. Se introduce por la fenestración ósea una cánula de vidrio con la punta curva y extremo levemente irregular y diseñada *ad-hoc*. La misma está conectada a la bomba de succión de baja potencia y con suaves movimientos se despeja la cavidad donde se aloja el **BO** hasta su total remoción. El procedimiento se debe realizar con la precaución para no lesionar los vasos sanguíneos que irrigan al **BO** ni los senos venosos que se encuentran en la vecindad.

🕒 **Sexto tiempo.**

Implante de ficha de conexión. Se repiten los procedimientos realizados en la implantación de electrodos craneales superficiales.

🕒 **Séptimo tiempo**

Implante de electrodos de registro. Se repiten los procedimientos realizados en la implantación de electrodos craneales superficiales.

🕒 **Octavo tiempo.**

Conexión de los electrodos a la ficha y fijación de la estructura. Se repiten los procedimientos realizados en la implantación de electrodos craneales superficiales.

🕒 **Noveno tiempo.**

Síntesis de la diéresis ósea. Una vez terminada la implantación de electrodos y en el momento de realizar la fijación y consolidación de los electrodos con acrílico y resina se coloca una placa de acetato sobre la ventana ósea realizada para la sección de los **BO**, con el fin de sustituir la porción de hueso eliminado.

🕒 **Décimo tiempo.**

Sutura de piel. Se repiten los procedimientos realizados en la implantación de electrodos craneales superficiales.

🕒 **Fin de la intervención quirúrgica.**

Se limpió y desinfectó la herida quirúrgica y el campo quirúrgico con una solución de Iodopovidona al 10 % o Cloruro de Benzalconio al 0,5 %, en forma indistinta. Se colocó aerosol a base de productos cicatrizantes y antibióticos (ej.: tetraciclina). Los tejidos expuestos se cubrieron con sacarosa para inhibir la proliferación de microorganismos y ayudar a una rápida granulación.

### **Cuidados posquirúrgicos.**

Se realizó control, limpieza y desinfección de la herida en forma diaria o cada dos días hasta la cicatrización total. Se utilizó para tal fin una solución de Iodopovidona Cloruro de Benzalconio al 0,5 % en forma indistinta y se continuó con la colocación de sacarosa.

En los primeros días puede haber tejido necrosado en exceso, en tales casos se le remueve el tejido con instrumental quirúrgico, en condiciones asépticas y bajo sedación con el protocolo ya mencionado en el **Capítulo 5: condiciones de alojamiento (Tabla 10. I.)**. Las drogas se administran en la misma jeringa.

Se aplicó medicación analgésica, antiinflamatoria y antibiótica inyectable según el protocolo detallado en las **Tablas 10. II. y 10. III.**

En la medicación con corticoides se combinó uno de acción inmediata y uno de acción prolongada por la dificultad de administración durante los días no laborables. La medicación antibiótica se administró cada 48 hs. por ser una sal de depósito.

### **Resultados y consideraciones finales.**

Todos los animales presentaron una recuperación satisfactoria tanto a la anestesia como al procedimiento quirúrgico. La cicatrización nunca es total mientras permanece la “torre” del dispositivo permanente de registro.

No se observaron respuestas clínicas indeseables a la administración simultánea de corticoides y antiinflamatorios no esteroideos (**AINES**), los animales no presentaron decaimiento, ni regurgitación y todos presentaron normofagia; por lo que no fue necesario el uso de Ranitidina como protector gástrico.

La administración relativamente prolongada de corticoides fue diseñada en función de disminuir la respuesta inflamatoria y el edema a la manipulación local. Durante este tiempo relativamente prolongado de administración no se observaron efectos indeseables como poliuria y polidipsia en los animales en estudio.

La medicación antibiótica elegida, más las adecuadas curaciones antiséptica y la apropiada asepsia del campo quirúrgico se combinaron para obtener un posquirúrgico sin procesos infecciosos importantes que pusieran en riesgo la vida del animal ni el desarrollo de la experiencia.

Los ejemplares fueron utilizados para estudios histológicos de la zona quirúrgica a fin de confirmar la exactitud y rigurosidad de la intervención. Los mismos fueron anestesiados sin recuperación y perfundidos con soluciones fijadoras de los tejidos

siguiendo las normas de anestesia y eutanasia recomendadas internacionalmente (CCAC, 1998. f).

#### **10. 4. 4. PANCREATITIS EXPERIMENTAL.**

##### **Introducción.**

Las Pancreatitis Agudas (**PA**) en humanos son causa frecuente de consulta en los Servicios de Emergencias. Tanto su etiopatogenia como la respuesta inflamatoria desencadenada son ejes de controversia, a la luz del desconocimiento actual de muchos de estos aspectos. La influencia del Sistema Nervioso Autónomo dentro de la respuesta a la inflamación es actualmente discutida (García y col., 2001 a).

Los factores etiopatogénicos que desencadenan las pancreatitis agudas (**PA**) en humanos son complejos. Los mecanismos involucrados aún hoy son discutidos y las teorías clásicas se encuentran en revisión.

García y colaboradores (2001 b) plantean que la mayoría de los estudios publicados hasta la fecha, demuestran una relación significativa entre **PA** y enfermedad del árbol biliar. En efecto, existen litiasis en dos tercios de los casos publicados por esta afección, lo que supone una frecuencia varias veces superior a la observada en la población media (Frey y col., 1988). Si bien la mayoría de los pacientes que presentan la denominada **PA** biliar tienen litiasis vesicular, un porcentaje significativo presenta el denominado barro biliar (“sludge”), subestimado por muchos especialistas. La teoría de Opie (1901) de la existencia de un canal común fue aceptada como causa de **PA** en forma casi incondicional, tanto en su concepción química (reflujo biliopancreático post-impactación calculosa en la papila de Vater) o física (obstrucción ductal Wirsungiana).

Sin embargo, hoy las dos teorías son discutidas. En primer término por estar demostrado que la presión ductal pancreática es superior a la biliar (lo que evitaría el reflujo) y en segundo lugar tampoco está claro como se activaría en el intersticio el jugo pancreático.

Varios autores han utilizado al oposum norteamericano como modelo experimental con el objetivo de producir **PA** por hipertensión ductal en forma experimental (Lerch y col., 1992 y 1993; Rünzi y col., 1993; Samuel y col., 1993; Steer y Saluja; 1993). Como resultado de sus estudios se ha propuesto la teoría de activación enzimática

intracelular. Se produciría un bloqueo de los mecanismos de exocitosis que sería el responsable de las alteraciones del transporte intracelular de los gránulos de cimógeno. La fusión intracelular de los lisosomas sería responsable final de la activación enzimática intracelular. Aunque ya hay opiniones en contra de esta teoría bajo el argumento que el pH ácido intracelular no permitiría la activación enzimática.

La etiología biliar de la **PA** pretende explicarse por dos mecanismos de acción poco claros:

- Migración calculosa a través de la papila
- El papel del barro biliar como desencadenante

En este sentido, y como sostiene Oría y col. (1991), el fenómeno de la migración sólo puede ser demostrado en el 50 % de los casos, a pesar de tener litiasis vesicular.

Es opinión de García y col. (2001 b), que hay dos elementos que desempeñan un papel fundamental en la génesis de una **PA**:

1. La intervención del **SNA** a través de reflejos autonómicos originados preferentemente en la región perivateriana (que presenta una rica inervación y capacidad reflexógena).
2. El estado funcional del páncreas en momentos previos al ataque de **PA**.

Múltiples citas bibliográficas con clara orientación anatomofisiológicas ubican la activación del proceso en el duodeno perivateriano (**D-PV**). En este sentido, Tiscornia y colaboradores (1983, 1986 a, 1986 b) y Tiscornia y Dreiling (1986) han sostenido la existencia de tres reflejos:

- a. Inhibidor secretorio: responsable del frenosecretorio del páncreas
- b. Simpático isquémico: responsable de la apertura de los shunts intrapancreáticos
- c. Pseudoaxónico: aceptado como sustrato de la inflamación neurogénica. Actuaría por dos mecanismos:
  - liberación de neurotransmisores sintetizados por la neuronas aferentes
  - liberación de sustancias vasoactivas secretados por los “mast-cells” (histamina, serotonina, fermentos) y con la formación de bradikinina

Así se explican el incremento de la permeabilidad capilar y la liberación de citoquinas.

El segundo elemento que García y col. (2001 b) consideran importante es el estado funcional previo del páncreas. En este sentido, los factores comúnmente relacionados al desarrollo de una **PA** son:

- a. Alcoholismo crónico y

**b.** La ingesta alimentaria muy abundante y rica en proteínas y grasas

Están documentado que el papel del sistema nervioso autónomo en la respuesta inmunológica e inflamatoria es todavía un tema de discusión; que los mecanismos fisiopatológicos involucrados no son del todo conocidos; que la no escapa a este desconcierto y que la zarigüeya ha sido propuesta en repetidas oportunidades como modelo en esta área de investigación por la similitud con el ser humano de la morfológica de la región vateriana (Senninger y col., 1986; García y col., 1988 a y 1988 b; Lerch y col., 1992; Samuel y col., 1993; Rünzi y col., 1993). En función de lo antedicho, el grupo de investigación formado por los Dres. Tiscornia, García y col., junto al autor de esta Tesis, se plantearon desarrollar un modelo inducido de **PA** en un **ALNT**.

Para alcanzar este objetivo se propuso la desaferentación neurológica del páncreas en *D. albiventris* y posterior obstrucción del conducto pancreático, para luego evaluar los cambios histológicos y bioquímicos de la respuesta inflamatoria aguda en la **PA** desencadenada

El diseño experimental contempló dos intervenciones quirúrgicas:

**A. Sección bilateral del nervio esplácnico (Esplacnicectomía).**

**B. Sección del nervio vago (Vagotomía troncular).**

Las mismas establecen una desaferentación nerviosa del páncreas. Estas intervenciones pueden practicarse en forma secuenciada dentro del mismo acto quirúrgico, o en actos quirúrgicos independientes.

En pro de una mayor claridad en las descripciones, se desarrollarán en forma independiente en la presente Tesis.

**10. 4. 4. 1. Pancreatitis Experimental:**

**Sección bilateral del nervio esplácnico (Esplacnicectomía).**

**Técnica quirúrgica**

Se utilizaron *D. albiventris* machos y hembras. Los mismos pertenecían a la Colonia de Armadillos y Marsupiales del Instituto de Neurociencia. Todos ellos adultos y adaptados a las condiciones de cautividad del bioterio y con un ayuno de 12 horas.

Los animales se encontraban bajo anestesia profunda, se utilizó una anestesia balanceada ya descrita en el capítulo correspondiente.

Se realizó una cuidadosa tricotomía y desinfección de la zona abdominal y su vecindad con iodopovidona al 10 %.

Se los colocaron en posición decúbito dorsal sobre la mesa de operaciones y se colocaron apropiados campos quirúrgicos.

El acto quirúrgico de la esplanicnecotomía en *D. albiventris* se realizó con instrumental y material estéril y requirió un procedimiento que se realizó en tiempos intraoperatorios.

🕒 **Primer tiempo.**

Diéresis de piel. Se realiza una incisión con bisturí retro esternal preumbilical sobre línea media ventral.

🕒 **Segundo tiempo.**

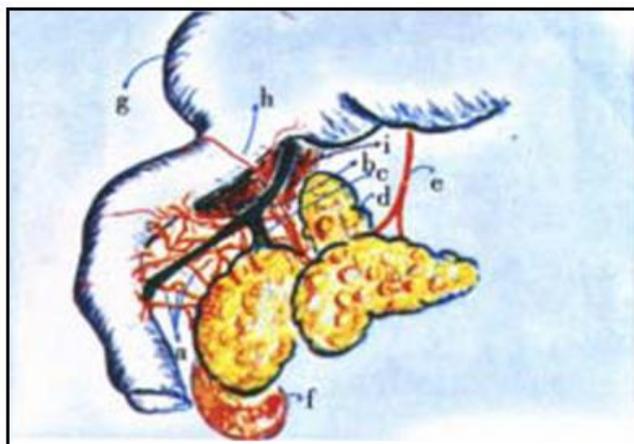
Diéresis del plano muscular y peritoneo. Se realiza un pequeño ojal con pinza de diente ratón y tijera Metzelbaum sobre la línea alba en el punto medio de la incisión proyectada hasta alcanzar la cavidad abdominal. Con sonda acanalada y bisturí se amplía la incisión hacia craneal y caudal tanto como fuera proyectada.

🕒 **Tercer tiempo.**

Esplanicnecotomía. Mediante divulsión roma utilizando tijera Metzelbaum y gasa estéril, se van separando los órganos que se presentan superficialmente hasta llegar al estómago. Se lo rebate cuidadosamente hacia cráneo-lateral y se aborda el techo de la cavidad abdominal. Siguiendo con divulsión roma se identifica la vía nerviosa esplácnica cercana a la inserción dorsal del diafragma, que aflora de un panículo adiposo en el techo de la cavidad abdominal y que proveniente de los plexos celíaco y mesentéricos superior (**Figura 10. 24. a., b. y c.**). Se secciona la vía nerviosa.

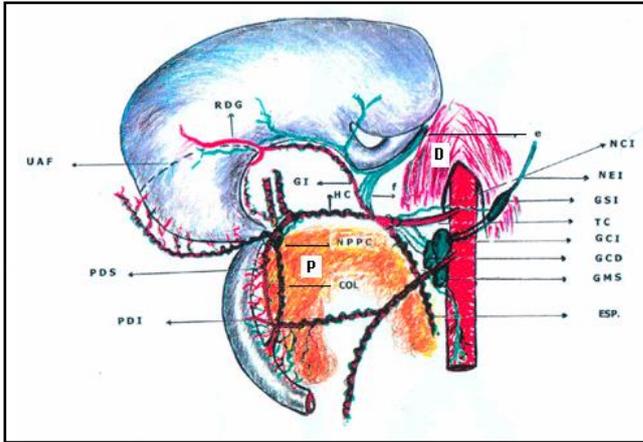
**Figura 10. 24. a.**

Esquema donde se observan algunas de las características anatómicas de la región gastroduodenal de la zarigüeya. **a)** importante densidad de fibras nerviosas que saltan la hendidura duodeno-pancreática. **b)** conducto biliar. **c)** conducto pancreático principal. La unión de ambos da origen a un largo segmento bileo-pancreático común antes de llegar a la desembocadura en el duodeno. **d)** presencia de una extensión de la glándula pancreática en el hilio hepático. **e)** llegada del nervio vago al páncreas. **f)** riñón derecho. **g)** estómago desplazado hacia arriba y hacia la derecha. **h)** ramas duodenal y pilórica de la arteria hepática. **i)** Hígado. (Modificado de Tiscornia y col. 2000).



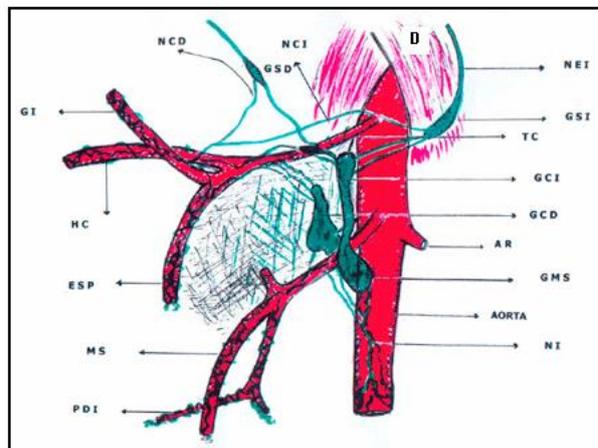
**Figura 10. 24. b.**

Esquema orientativo para un conocimiento aproximado de la anatomía topográfica de la región gastroduodenal. Se aprecia una vista general de la innervación gastro-duodeno-pancreática. El estómago ha sido desplazado hacia arriba y a la derecha exponiendo su cara posterior y observar la distribución de los ramos del vago derecho o posterior. **P**) páncreas. **D**) diafragma. **e**) nervio vago derecho o posterior. **NCI**) nervio celíaco izquierdo. **NEI**) nervio esplácnico izquierdo. **GSI**) ganglio suprarrenal izquierdo. **TC**) tronco arterial celíaco. **GCI**) ganglio celíaco izquierdo. **GCD**) ganglio celíaco derecho. **ESP**) arteria esplénica. **f**) ramo celíaco del vago derecho. **Col**) colédoco. **NP-PC**) nódulo pleural pre-coledociano. **GMS**) ganglio mesentérico superior. **HC**) arteria hepática común; **GI**) arteria gástrica izquierda; **PDI**) arteria pancreático-duodenal inferior; **PDS**) arteria pancreático duodenal superior; **UAF**) unión antro-fúndica; **RDG**) rama dorsal gástrica de la arteria gástrica izquierda. (Modificado de Tiscornia y col. 2002).



**Figura 10. 24. c.**

Esquema orientativo para un conocimiento aproximado de la anatomía topográfica de la región retrogastroduodenal. Se aprecia una vista general de la innervación autonómica dependiente del complejo esplácnico-solar. **D:** diafragma. **NEI**) nervio esplácnico izquierdo. **GSI**) ganglio suprarrenal izquierdo. **GSD**) ganglio suprarrenal derecho. **TC**) tronco arterial celíaco. **GCI**) ganglio celíaco izquierdo. **GDS**) ganglio celíaco derecho. **AR**) arteria renal izquierda. **GMS**) ganglio mesentérico superior. **NI**) nervio intermesentérico. **PDI**) arteria pancreático-duodenal inferior. **MS**) arteria mesentérica superior. **ESP**) arteria esplénica. **HC**) arteria hepática común. **GI**) arteria gástrica izquierda. **NCD**) nervio celíaco derecho. **NCI**) nervio celíaco izquierdo. (Modificado de Tiscornia y col. 2002).



🕒 **Cuarto tiempo.**

Síntesis del plano muscular y peritoneo. Se sutura el plano en masa con sutura perforante, continua, con punto trabado. Se utilizó aguja atraumática 3/8 de círculo de 20 mm. con hilo de nylon 3-0.

🕒 **quinto tiempo.**

Síntesis de la piel. Se realizó en dos planos o etapas. Puntos simples en cruz, subdérmicos, de afrontamiento, para disminuir la tensión de la sutura de piel final. Se utilizó aguja atraumática 3/8 de círculo de 20 mm. con hilo de nylon 3-0. Segunda etapa: sutura de piel con puntos discontinuos, en “U” horizontal, con aguja recta atraumática e hilo de nylon 3-0.

🕒 **Fin de la intervención quirúrgica.**

Se limpió y desinfectó la herida quirúrgica y el campo con agua oxigenada de 10 volúmenes (uso medicinal) y solución de iodopovidona al 10 %. Se colocó aerosol a base de productos cicatrizantes y antibióticos (ej.: tetraciclina).

**10. 4. 4. 2. Pancreatitis Experimental:**

**Sección del nervio vago (Vagotomía troncular).**

**Técnica quirúrgica**

Se utilizaron *D. albiventris* machos y hembras. Los mismos pertenecían a la Colonia de Armadillos y Marsupiales del Instituto de Neurociencia. Todos ellos adultos y adaptados a las condiciones de cautividad del bioterio y con un ayuno de 12 horas.

Los animales se encontraban bajo anestesia profunda, se utilizó una anestesia balanceada ya descrita en el capítulo correspondiente.

Se realizó una cuidadosa tricotomía y desinfección de la zona abdominal y su vecindad con iodopovidona al 10 %.

Se los colocaron en posición decúbito dorsal sobre la mesa de operaciones y se colocaron apropiados campos quirúrgicos.

El acto quirúrgico de la vagotomía troncular en *D. albiventris* se realizó con instrumental y material estéril y requirió un procedimiento que se realizó en tiempos intraoperatorios.

🕒 **Primer tiempo.**

Diéresis de piel. Se realizan los procedimientos descritos en la esplanicectomía bilateral.

🕒 **Segundo tiempo.**

Diéresis del plano muscular y peritoneo. Se realiza los procedimientos descritos en la esplanicectomía bilateral.

🕒 **Tercer tiempo.**

Vagotomía troncular anterior. Mediante divulsión roma utilizando tijera Metzelbaum y gasa estéril, se van separando los órganos que se presentan superficialmente hasta llegar al estómago. En su cara anterior se identifica la trayectoria del nervio vago izquierdo o anterior (**Figura 10. 25. a.**). Se secciona dicha vía nerviosa adherida al estómago.

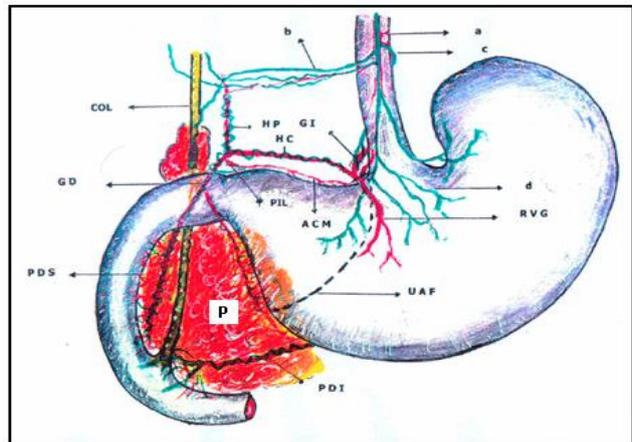
🕒 **Cuarto tiempo.**

Vagotomía troncular posterior. Se rebate cuidadosamente el estómago hacia cráneo-lateral y se identifica en su cara posterior la trayectoria del nervio vago derecho o posterior (**Figura 10. 25. b.**). Se secciona dicha vía nerviosa adherida al estómago.

**Figura 10. 25. a.**

Esquema orientativo para un conocimiento aproximado de la anatomía topográfica de la región gastroduodenal. Vista anterior de la región gastro-duodeno-pancreática, con énfasis en los plexos nerviosos autonómicos perivasculares.

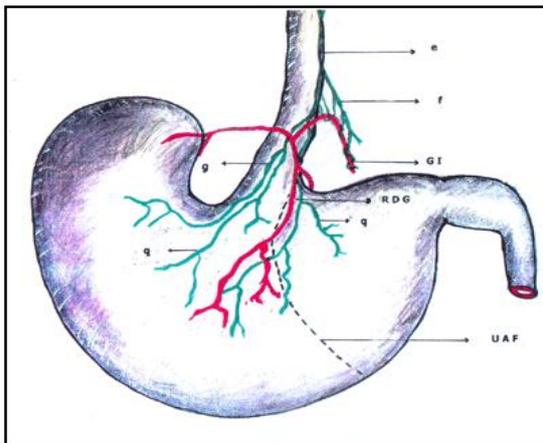
**P)** páncreas. **A)** nervio vago izquierdo o anterior; **b)** ramo hepático; **c)** ramo celíaco; **d)** ramos gástricos; **col)** colédoco; **ACM)** arteria curvatura menor; **HC)** arteria hepática común; **HP)** arteria hepática propia; **GD)** arteria gastroduodenal; **PDS)** arteria pancreático-duodenal superior; **PDI)** arteria pancreático-duodenal inferior; **Pil)** arteria pilórica; **GI)** arteria gástrica izquierda; **RVG)** rama ventral gástrica; **UAF)** unión antro-fúndica.  
(Modificado de Tiscornia y col. 2002).



**Figura 10. 25. b.**

Esquema orientativo para un conocimiento aproximado de la anatomía topográfica de la región gastroduodenal. Vista posterior de la región gastro-duodeno-pancreática, con énfasis en los plexos nerviosos autonómicos. El estómago y el duodeno han sido rotados hacia la derecha haciendo visible su cara posterior.

**e)** nervio vago derecho o posterior; **f)** ramo celíaco; **g)** ramos gástricos; **GI)** arteria gástrica izquierda; **RDG)** rama dorsal gástrica de la arteria gástrica izquierda; **UAF)** unión antro-fúndica. (Modificado de Tiscornia y col. 2002).



🕒 **Quinto tiempo.**

Piloroplastia. A fin de permitir la normal evacuación gástrica luego de la vagotomía, se realiza una piloroplastia. Se realiza una pequeña incisión en sentido longitudinal sobre el esfínter pilórico, en su región menos vascularizada. Se sutura con aguja atraumática curva ½ círculo de 15 mm con hilo de nylon 4-0, con una sutura continua invaginante en sentido cráneo-caudal para evitar la estenosis cicatrizal del esfínter.

🕒 **Sexto tiempo.**

Síntesis del plano muscular y peritoneo. Se repiten los procedimientos descritos en la esplancnicectomía bilateral.

🕒 **Séptimo tiempo.**

Síntesis de la piel. Se repiten los procedimientos descritos en la esplancnicectomía bilateral.

🕒 **Fin de la intervención quirúrgica.**

Se limpió y desinfectó la herida quirúrgica y el campo con agua oxigenada de 10 volúmenes (uso medicinal) y solución de iodopovidona al 10%. Se colocó aerosol a base de productos cicatrizantes y antibióticos (ej.: tetraciclina).

**Cuidados posquirúrgicos para ambos procedimientos quirúrgicos.**

Se realizó control, limpieza y desinfección de la herida en forma diaria hasta la cicatrización total. Se utilizó una solución de iodopovidona y agua oxigenada en partes iguales para la limpieza diaria.

Se aplicó medicación analgésica, antiinflamatoria y antibiótica inyectable según el protocolo detallado en las **Tablas 10. II. y 10. III.**

En la medicación con corticoides se combinó uno de acción inmediata y uno de acción prolongada por la dificultad de administración durante los días no laborables. Los corticoides y el **AINES** se administró en forma simultánea durante 5 días totales.

La medicación antibiótica se administró cada 48 hs. por ser una sal de depósito.

**Resultados y consideraciones finales para ambos procedimientos quirúrgicos.**

Todos los animales presentaron una recuperación satisfactoria tanto a la anestesia como al procedimiento quirúrgico. La cicatrización se concretó sin complicaciones en un plazo de 6 a 7 días.

No se observaron respuestas clínicas indeseables a la administración simultánea de corticoides y antiinflamatorios no esteroideos (**AINES**), los animales no presentaron decaimiento, ni regurgitación y todos presentaron normofagia; por lo que no fue necesario el uso de Ranitidina como protector gástrico.

La administración relativamente prolongada de corticoides fue diseñada en función de disminuir la respuesta inflamatoria y el edema a la manipulación local perineuronal y al trauma neuronal de extirpación. Durante este tiempo relativamente prolongado de administración no se observaron efectos indeseables como poliuria y polidipsia en los animales en estudio.

La medicación antibiótica elegida, más las adecuadas curaciones antiséptica y la apropiada asepsia del campo quirúrgico se combinaron para obtener un posquirúrgico sin procesos infecciosos indeseables.

La sutura del plano muscular se hizo con punto trabado para reforzar la seguridad de la región, ya que, al ser la zarigüeya un animal cuadrúpedo, todo el peso de los órganos abdominales presiona sobre la línea de sutura. La sutura de piel se realizó en dos subplanos atendiendo a las mismas consideraciones.

#### **Nota aclaratoria:**

El diseño experimental de inducción de **PA** se completó con la distensión de la segunda porción del duodeno, por el insuflado de una sonda Foley frente a la papila, lo que produce **PA** rápidamente. Este procedimiento se efectuó a los 7, 30 y 45 días, según diseño experimental, en los distintos grupos de animales en estudio luego de haber realizado la esplennectomía y la vagotomía troncular.

La colocación de la sonda Foley intraentérica se realizó en tiempos quirúrgicos similares a los descriptos, que se resumen a continuación.

Segunda etapa quirúrgica.

#### 🕒 **Primer tiempo.**

Diéresis de piel. Se realizan los procedimientos descriptos en las anteriores cirugías.

#### 🕒 **Segundo tiempo.**

Diéresis del plano muscular y peritoneo. Se realizan los procedimientos descriptos en las anteriores cirugías.

#### 🕒 **Tercer tiempo.**

Colocación de la sonda Foley. Mediante divulsión roma utilizando tijera Metzelbaum y gasa estéril, se van separando los órganos que se presentan superficialmente hasta llegar

al duodeno, región de la Ampolla de Vater. Se incide el intestino en sentido longitudinal en su región menos vascularizada en caudal de la ampolla citada. Se introduce la sonda por dicho ojal y se la ubica en la región de desembocadura del conducto pancreático. Se insufla la sonda y se la fija con sutura adecuadamente.

🕒 **Cuarto tiempo.**

Mantenimiento anestésico y toma de muestra. Se mantiene el animal bajo anestesia quirúrgica durante 4 horas y se toman muestras sanguíneas a intervalos regulares a fin de evaluar los cambios fisiopatológicos.

🕒 **Quinto tiempo.**

Eutanasia. Se realiza la eutanasia bajo las recomendaciones internacionales (CCAC, 1998. f) y se extraen las muestras de órganos necesarias para los estudios histopatológicos para confirmación y evaluación de la precisión de la experiencia.

Los resultados fisiopatológicos de la inducción quirúrgica de **PA** pueden consultarse en García y col. (1988 a y 1988 b), Tiscornia y col. (1999), García y col. (2001 a) y García y col. (2002).

-----00000-----

**A modo de reflexión final.**

No se puede pensar la investigación fisiológica sin involucrarse en la cirugía experimental. Es esta, quizás, una de las áreas más conflictivas de la investigación biomédica con modelos biológicos. Quienes estamos implicados en esta disciplina investigativa tenemos múltiples responsabilidades. Por un lado ser fieles a la rigurosidad del diseño experimental, por otro ser tenaces en la defensa de la ética en el uso de animales para experimentación. Pero por sobre todas las cosas demostrar este equilibrio públicamente y actuar con la suficiente transparencia a fin de demostrar el valor inestimable de la experimentación animal; respondiendo así a quienes se oponen, sin fundamentos, al uso de los modelos experimentales vivos para el avance del conocimiento científico.

**Las descripciones precedentes tienen por finalidad, no sólo mostrar lo adecuado de la elección de los modelos animales no tradicionales propuestos, sino también jerarquizar los procedimientos quirúrgicos experimentales como herramienta precisa e imprescindible en la investigación fisiológica biomédica.**

La cirugía experimental no es un mero trámite dentro del diseño experimental. Su detallada y clara descripción es una forma de honrar a los eminentes investigadores que nos precedieron y que fueron pioneros en esta disciplina, a la luz de los actuales conocimientos en bioética y bioseguridad.

## **Capítulo 11: Conclusiones finales.**

Si bien en cada capítulo precedente existe un apartado con **Consideraciones Finales** para cada **Tema** y cada **Especie** en estudio, considero apropiado resumir brevemente las **Conclusiones Finales** que reflejen el pensamiento y el deseo del autor, teniendo en cuenta los objetivos prefijados al inicio de esta **Tesis**.

### **11. 1. Conclusiones finales.**

- Ha quedado suficientemente documentado la importancia de *C. villosus*, *C. vellerosus*, *D. albiventris* y *L. crassicaudata* en la investigación Biomédica. Con los grandes avances de la instrumentación tecnológica en los últimos años, es altamente probable que esa importancia se magnifique con el aumento de aplicaciones de las especies en estudio.
- Se comprobó que las instalaciones descritas fueron muy eficaces para la cría y mantenimiento de las especies estudiadas. El logro de condiciones estrictas y rigurosas de cautividad y una perfecta estandarización del manejo de la colonia sin que aparezcan patologías clínicas y/o comportamentales, ha ido en beneficio de un sistema de crianza simple, repetible y económico de Armadillos y Zarigüeyas.  
Con el desarrollo de la industria de los plásticos, no me caben dudas que puedan utilizarse jaulas y otros insumos que no solo mejoren la calidad sanitaria de los animales estudiados, sino que sirvan para abaratar costos. Estamos trabajando en ese sentido.
- La manipulación de los Armadillos no ofrece secretos, más que los cuidados propios de las buenas prácticas en el manejo y uso de animales de laboratorio, tanto para la seguridad del operador como para la del animal en estudio.
- En el caso de las Zarigüeyas, quedó demostrado que con un mínimo de entrenamiento es factible su manipulación sin riegos para el operador ni para el sujeto experimental. Con las sucesivas camadas nacidas en el bioterio se observó una adaptación cada vez mayor a la presencia y manipulación del operador. Si bien los ejemplares nunca

perdieron la realización del “display” de agresión, compuesto por la apertura de la boca y la emisión de un sonido sibilante de origen faríngeo. Una vez adaptados a través del nacimiento de sucesivas generaciones, los sonidos fueron más débiles y no direccionados hacia el operador.

- La contención química de todas las especies estudiadas resultó fácil y práctica, no percibiendo efectos clínicos indeseables ni a las drogas ni a la metodología de inoculación.
- La reproducción en Armadillos ha resultado efectiva, tanto en lo referente a las instalaciones como a la metodología. Sin embargo, debido a la falta de evidencias externas del período estral resulta difícil la realización de apareamientos programados. Deberá continuarse con las investigaciones tendientes a establecer estimadores externos confiables de la evolución del ciclo estral de estos Dasipódidos.
- En lo concerniente a la reproducción en Zarigüeyas, fueron cumplidos los objetivos de establecer pautas para estimar el momento adecuado para los apareamientos programados y se obtuvieron cría a partir de los mismos. Queda por determinar la frecuencia estacional del período de estro y la duración en días de cada una de las fases del ciclo. Este trabajo está en curso en base al material recolectado durante las numerosas semanas de estudio.

Es para resaltar que la metodología de muestreo para la citología vaginal propuesta en esta Tesis resulta más práctica y efectiva que la utilizada en los trabajos clásicos sobre el tema.

- Las determinaciones realizadas sobre la evolución del peso en las primeras semanas de vida en estos modelos animales resultan sumamente interesantes, sobre todo para el género *Lutreolina*, tan poco estudiado. Las curvas de crecimiento realizadas nos brindan un gran aporte al establecimiento de un percentil de los modelos estudiados, en función de un mejor conocimiento de su desarrollo etario y su salud durante el mismo.
- Los valores de hemograma y bioquímica sanguínea determinados ofrecen un notable aporte al establecimiento de valores clínico-fisiológicos de referencia a fin de controlar

la salud de los ejemplares en condiciones de bioterio y así mismo, evaluar el estado sanitario de los animales muestreado a campo o recién incorporados a las colonias.

Merece destacarse que la diversidad de datos aportada en la presente Tesis resulta notablemente completa en comparación con las referencias recopiladas de otros autores, por lo que resulta una adecuada base para iniciar el desarrollo de un **perfil sanguíneo de los animales en estudio**, tanto en lo referente a su bioquímica como a sus elementos celulares.

- Los procedimientos anestésicos utilizados fueron evolucionando a través del tiempo, en función de los nuevos conocimientos en anestesiología veterinaria y las nuevas combinaciones de drogas posible. Los fármacos utilizados son todos de fácil acceso en el mercado y viables económicamente. Aunque no es adecuado la comparación con otras especies, sobre todo por las diferencias filogénicas que los separan, resultan llamativas las dosis utilizadas de los anestésicos principales. Dichas dosis son elevadas si las comparamos con ejemplares de similar talla y peso y más relacionadas con las utilizadas para pequeños roedores de laboratorio, que dado su alta tasa metabólica requieren una dosis mayor de fármaco.

Las drogas y combinaciones anestésicas utilizadas en ambos grupos de ALNT en el desarrollo de esta Tesis resultan difíciles de comparar con los resultados de otros autores, dado que la mayoría de estos las han utilizado para maniobras de manipulación y toma de muestras, y no para procedimientos quirúrgicos como es el caso de la mayoría de las propuestas en esta Tesis.

- El diseño de las intervenciones quirúrgicas experimentales ha sido, en gran medida, innovadoras. Los Armadillos han demostrado ser particularmente resistentes a dichas intervenciones. Las Zarigüeyas también han demostrado un notable grado de rusticidad, y por otro lado ofrecen la invaluable posibilidad de trabajar con un modelo de un primitivismo único dado su particular posición filogénica, lo que la hace muy especial en la disciplina quirúrgica.
- Lo expuesto en esta Tesis ha demostrado que es posible mantener, criar y reproducir las especies de Armadillos *C. villosus* y *C. vellerosus* y las Zarigüeyas *D. albiventris* y *L. crassicaudata* bajo condiciones de bioterio para ser utilizados como Animales de Laboratorio No Tradicionales (ALNT). Allana esta primera etapa del camino es

esperable que, en el futuro, los investigadores adopten estos modelos para abordar problemáticas que el uso de modelos tradicionales no pueda resolver y abrir nuevas perspectivas en el campo de las Ciencias Biomédicas. También servirán para corroborar estudios realizados con Animales de Laboratorio Tradicionales (**ALT**) y de este modo generalizar aún más los resultados obtenidos.

- Ha sido muy placentero y enriquecedor profundizar conocimientos en la búsqueda bibliográfica de autores como E. B. Casanave de Argentina o R. A. Casagrande de Brasil, y sus respectivos grupos de trabajo. Es deseable que pudieran aunarse esfuerzos en los estudios futuros de estos maravillosos modelos animales.
- El autor plantea la utilización de las técnicas y métodos desarrollados en la presente **Tesis como buenas práctica en el uso** de las especies estudiadas como modelos experimentales dentro del grupo de **ALNT**. Propone, además, la ampliación del estudio de estas especies para que en un futuro puedan incorporarse al grupo de los Animales de Laboratorio Tradicionales. (**ALT**).

## **Capítulo 12: Bibliografía de la Tesis.**

### **12. 1. Bibliografía citada.**

1. Abba, A. M. 2008. Ecología y conservación de los armadillos [*Mammalia, Dasypodidae*] en el noreste de la provincia de Buenos Aires, Argentina. Tesis doctoral N°: 0951. Biblioteca Florentino Ameghino. Facultad de Ciencias Naturales y Museo - Universidad Nacional de La Plata.
2. Affanni, J.M. y O.L. Vaccarezza, 1964. Observaciones sobre el sueño del marsupial *Didelphis azarae* (comadreja o zarigüeya). Rvta. Soc. Argent. Biol., 40:2-8.
3. Affanni, J. M. y O. L. Vaccarezza. 1966. Electrocorticographic study of sleep in the opossum *Didelphis azarae*. C R Seances Soc Biol Fil.; 160(3):702-704.
4. Affanni, J.M.; O. L. Vaccarezza y J. C. Aballone. 1967. Difference in electrical activity during wakefulness and phase of “sleep with muscular twitches” as recorder from the cortex of the marsupial *Didelphis azarae* (South American opossum). Experientia 23: 216.
5. Affanni, J.M.; Morita, E. 1968. Asymétrie bioélectrique du cortex des hemispheres cérébraux chez marsupial *Didelphis azarae*. Effect de la section des commissures telencephaliques. C. R. Seances Soc. Biol. Ses. Fil 162: 1608-1609.
6. Affanni, J. M.; L. García Samartino y E. Morita. 1968a. Observación sobre la actividad eléctrica del Neocortex, paleocortex y bulbo olfatorio de *Chaetophractus villosus*. Rvta. Soc. Argent. Biol. 44: 189.
7. Affanni, J.M., E. Morita y L. García Samartino., 1968b. Efectos de la sección de los pedúnculos olfatorios y de la comisura anterior sobre la actividad del bulbo olfatorio del marsupial *Didelphis albiventris*. Rvta. Soc. Argent. Biol., 44:183-188.
8. Affanni, J.; R. Caruso; L. García Samartino; T. Mascitti; M. Pavia; H. Primavera de Baso y O. Vaccarezza. 1969. Interbulbar commissural olfactory parway: an experimental study in the armadillo *Chaetophractus villosus*. Acta. Physiol. Latino Americana, 19(4): 384-388.
9. Affanni, J. M. y L. García Samartino. 1970. Effects de la section du peduncle olfactif et de la commissure antérieure sur l’activité électrique du bulbe olfactif de *Didelphis azarae*. C.R. Séance, Soc. Biol., 164, 2, 2656.

10. Affanni, J.; L. García Samartino y E. Morita. 1970. Observations sur l'activité électrique du neocortex, du paléocortex et du bulbe olfactif chez *Chaetophractus villosus*. C. M. Séznc. Soc. Biol. Fil., París, 164(12): 2660.
11. Affanni, J.M. 1972. Observations on sleep of some South American Marsupials and Edentates. En: The sleeping brain perspectives in the brain sciences. (M.H. Chase Ed.) Brain Information Service: Brain Research Institute.1:21-23. UCLA. Los Angeles. EEUU.
12. Affanni, J. M.; L. García Samartino; A.M. Scaravilli y J. S. Panizza. 1973. Cambios de la actividad sinusoidal inducida de los bulbos olfatorios después de la sección de los pedúnculos olfatorios en *Chaetophractus villosus* (Mammalia, *Dasypodidae*). Physis, Bs. As., Secc. C, 32: 101-105.
13. Affanni, J. y L. García Samartino. 1976. The physiological importance of nasal respiration. Effect of the air current on olfactory bulbs and prepyriform cortex of the armadillo *Chaetophractus villosus*. Acta Physiol. Latinoam. 26(6):518.
14. Affanni, J.; M. Papini y L. García Samartino. 1978/79b. Acción del haloperidol sobre la actividad eléctrica del bulbo olfatorio de *Chaetophractus villosus*. Rvta. Soc. argent. Biol. 54-55: 21-22.
15. Affanni, J. M.; L. García Samartino; E. Casanave y J. Florin-Christensen. 1982. Fenómenos fisiológicos observados durante el enterramiento. Acta Physiol. Latinoam. 32: 78-79.
16. Affanni, J. M. 1983. Comadrejas y armadillos abren nuevos horizontes a la investigación científica. Quid 2: 35-54. Bs. As. Argentina.
17. Affanni, J. M. y L. García Samartino. 1984. Comparative study of electrophysiological phenomena in the olfactory bulb of some South American marsupials and edentates. In Comparative physiology of sensory systems. L. Bolis, R. D. Keynes, and S. H. P. Maddrell, eds. Cambridge University Press, Cambridge, p. 315-332.
18. Affanni, J.; E. Casanave; L. García Samartino y R. Ferrari. 1986. Neocortical and olfactory bulb activity, in armadillos submitted to covering with soil. Arch. Int. Physiol. Biochim. Bioph. 94: 4, 271-279.
19. Affanni, J. M. y C. O. Cervino. 1996. Acción de la melatonina sobre la actividad bioeléctrica de los bulbos olfatorios del armadillo *Chaetophractus villosus* (*Dasypodidae*). XI Jornadas Argentinas de Mastozoología, Sociedad Argentina para el Estudio de los Mamíferos (SAREM) (13 - 15 Noviembre). San Luís, Argentina.

20. Affanni, J. M.; C. Cervino; P. D. Carmanchahi y C. C. Ferrari. 1996. Efecto del Herbicida 2-6-Diclorobenzonitrilo sobre la Funcion Olfatoria y sobre la actividad Bioelectrica de los Bulbos Olfatorios del Armadillo *Chaetophactus villosus* (*Dasypodidae*). XI Jornadas Argentinas de Mastozoología, Sociedad Argentina para el Estudio de los Mamíferos (SAREM). (13 - 15 noviembre). San Luís, Argentina.
21. Affanni, J. M.; G. Barrantes y H. Aldana. 1996. Sitios de ligamiento de melatonina en la mucosa olfatoria del armadillo *Chaetophractus villosus*. XI Jornadas Argentinas de Mastozoología, Sociedad Argentina para el Estudio de los Mamíferos (SAREM): 53. (13. - 15. Noviembre). San Luís, Argentina.
22. Affanni, J. M. y C. O. Cervino. 1998. Influencia de la aferencia olfatoria sobre el sueño lento y paradójico. Publicaciones del XXIII Congreso Argentino de Neurociencias (AMA/AAN): 73. (5 - 7 junio). Mar del Plata. Argentina.
23. Affanni, J. M. y C. Cervino. 1998. Melatonina y sistema olfatorio: Evidencia de sitios de unión sobre la mucosa olfatoria y sus efectos sobre la actividad bioeléctrica de los bulbos olfatorios. XXIII Congreso Argentino de Neurociencias: 74. (5 - 7 junio). Mar del Plata, Argentina.
24. Affanni, J. M. y C. O. Cervino. 2000. Fisiología del Olfato y otros sentidos nasales. En: Fisiología Humana de Houssay (7ma ed.), A. Houssay y C. Cingolani (eds.). Buenos Aires: Ed. El Ateneo. 1120 pág.: 866-882.
25. Affanni, J.M.; C. O. Cervino y H. Aldana Marcos. 2001. Absence of penile erections during paradoxical sleep. Peculiar penile events during wakefulness and slow sleep in the armadillo. *J. Sleep Res.*, 10: 219-228.
26. Affanni, J. M. y C. O. Cervino. 2004. Influencia de la desaferentación olfatoria periférica, de la ablación de los órganos vomeronasales y de la eliminación simultánea de ambos sistemas sobre la actividad eléctrica del sistema olfatorio principal durante la vigilia y el sueño. *Actas de Fisiología (Uruguay)*, vol. 9, p. 42.
27. Affanni J.M. y C. O. Cervino. 2005. Interactions between Wakefulness, Sleep and the Olfactory System. In "The Nature of Sleep". Edited by Parmeggiani P.L. and Velluti R. Imperial College Press. London.
28. Affanni, J. M. 2006. Los efectos de la ausencia de las aferencias olfatorias en la regulación de la actividad eléctrica cerebral. *Tesaurus*. Año I, N° 3. Sec. Cienc. y Tec. UM. <http://www.unimoron.edu.ar/Portals/0/PDF/doc-invest-tesauro-es-3.pdf>

29. Affanni, J.; G. Barrantes; H. Aldana Marcos; C. Cervino y C. Ferrari. 2008. Melatonin binding in the olfactory mucosa of the armadillo. Rev. de la Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales (UM), 6: 59-65. Buenos Aires, Argentina.
30. Aldana Marcos, H.; I. Benítez y J. M. Affanni. 1995 a. La glándula de Harder del Armadillo *Chaetophractus villosus*. P. 2 In X Jornadas Argentinas de Mastozoología La Plata, Argentina, November.
31. Aldana Marcos, H. J.; I. Benítez y J. M. Affanni. 1995 b. New and peculiar cytoplasmic membranous bodies in the acinar cells of the harderian gland of the armadillo *Chaetophractus villosus*. Biocell 19:85-93.
32. Aldana Marcos, H. J.; C. C. Ferrari; I. Benitez y J. M. Affanni. 1996 a. La glándula de Harder, Lacrimal y Nictitante del armadillo *Chaetophractus villosus* (Dasypodidae): ubicación, histología, histoquímica y ultraestructura. In XI Jornadas Argentinas de Mastozoología, Sociedad Argentina para el Estudio de los Mamíferos (SAREM) San Luis, Argentina, 13. - 15. November.
33. Aldana Marcos, H. J.; C. C. Ferrari; A. Vitale y J. M. Affanni. 1996 b. Detección de melatonina en la glándula de Harder, lacrimal y nictitante del armadillo *Chaetophractus villosus* (Dasypodidae) mediante el uso de un método altamente sensible para la determinación de melatonina con HPLC en fase normal con detección fluorométrica. XI Jornadas Argentinas de Mastozoología, Sociedad Argentina para el Estudio de los Mamíferos (SAREM): 52. (Noviembre 1996). San Luís, Argentina
34. Aldana Marcos, H.; C. Ferrari, C. O. Cervino y J.M. Affanni. 2003. Histology, histochemistry and fine structure of the lacrimal and nictitans glands in the South American Armadillo, *Chaetophractus villosus*. Exp. Eye Res. 75 (6): 731-744.
35. Aldana Marcos, H. J. y J. M. Affanni. 2005. Anatomy, histology, histochemistry and fine structure of the Harderian gland in the South American armadillo *Chaetophractus villosus* (Xenarthra, Mammalia). Anat. Embryol. (Berl); 209 (5): 409-24.
36. Álvarez Zapata, R. y M. Benezra S. 2004. El crecimiento como proceso en la producción animal. En: Procesos biológicos involucrados en la producción animal. Etapa II. Ed.: Ramón Álvarez Zapata. Junio. Univ. Cent. de Venezuela. Fac. de Agr. Dep. de Zoot.. Cát. de Prod. Anim. Maracay. Venezuela.
37. Ameghino, F. 1913 – 1936. Obras completas y correspondencia científica. Impresiones Oficiales. La Plata.

38. Amezcua, M. E., V. Cazares y A. Escobar-Gutiérrez. 1978. El armadillo *Dasyopus novemcinctus* como modelo experimental en la lepra. Segundo Congreso Nacional de Inmunología, Oaxtepec, Mor., México, octubre 1-5.
39. Anand Kumar, T. C.; A. Sehgal; G. F. David; J. S. Bajaj y M. R. Prasad MR. 1980. Effects of intranasal administration of hormonal steroids on serum testosterone and spermatogenesis in rhesus monkey (*Macaca mulatta*). Biol Reprod.; 22(4): 935-940.
40. Anderson, J.M. y K. Benirschke. 1962. Tissue transplantation in the nine-banded armadillo *Dasyopus novemcinctus*. Ann. N.Y. Acad. Sci., 99 (3): 399-414.
41. Anderson, J.M. y K. Benirschke. 1966. The Armadillo, *Dasyopus novemcinctus*, in experimental biology. Lab. Anim. Care. 16 (3): 202-216.
42. Arruda, O. S. y M. S. P. Arruda. 1999. Study on the median sacral artery ramification and the body temperature of the armadillo (*Dasyopus novemcinctus*). Rev. Chil. Anat., vol.17, no.2, p.147-151.
43. AWIC (Animal Welfare Information Center). 1995. Environmental Enrichment Information Resources for Laboratory Animals: 1965–1995. U.S. Department of Agriculture (USDA). Animal Welfare Information Centre. AWIC Resource Series N° 2.  
<http://www.nal.usda.gov/awic/pubs/enrich/intro.htm>. Consultado: marzo 2009.
44. Baker, R. H. 1943. May food habits of armadillos in Eastern Texas. Am. Midl. Nat. 29: 379- 380.
45. Baliña, L. M.; R. P. Valdez; E. Resoagli; A. Martinez; P. Diaz; O. Bianchi; N. García y J. Bellocq. 1980. Estudios con *Dasyopus hybridus* (Mulita), *Dasyopus novemcinctus* (Tatú) y *Chaetophractus villosus* (Peludo). Rev. Arg. de Dermatología, 61: 151-154.
46. Baliña, L. M., R. P. Valdez, M. de Herrera, H. C. Cordova, J. Bellocq, y N. García. 1985. Experimental reproduction of leprosy in seven-banded armadillos, *Dasyopus hybridus*. Int. J. Lepr. 53: 595-599.
47. Barr, T.R.B. 1963. Infectious diseases in the opossum: a review. J. Wild. Mgmt. 27:53-71.
48. Bavera, G.; O. Bocco; H. Beguet y A. Petryna. 2005. Crecimiento, desarrollo y precocidad. Cursos de Producción Bovina de Carne, FAV UNRC. [www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar)
49. Beauchamps, G. K.; I. G. Martin; C. J. Wysocki y J. L. Wellington. 1982. The investigatory and sexual behavior of male guinea pigs following vomeronasal organ removal. Physiol. Behav. 29: 329-326.

50. Beaver, B.V. 1989. Environmental enrichment for laboratory animals. ILAR (Institute for Laboratory Animal Resources) News; 31e (2): 5-11.
51. Bello Gutiérrez, J. 2000. Ciencia bromatológica. Principios generales. pp. 425. Ed. Díaz de Santos. España. Pags.577.
52. Benirschke, K.; R. Low y V. Ferm. 1969. Cytogenetic studies of some armadillos. *In*: Benirschke, K. (ed.), Comparative mammalian cytogenetics, Springer Verlag, N.Y.: 330-345.
53. Benítez, I.; H. J. Aldana Marcos y J. M. Affanni. 1994. The encephalon of *Chaetophractus villosus*. A general view of its most salient features. *Comunicaciones Biológicas* 12, 57-73.
54. Berlucchi, G. 1966. Electroencephalographic activity of the isolated hemicerebrum of the cat. *Experimental Neurology*, 15: 220-228.
55. Bermúdez, P. M.; N. N. Polini y E. B.Casanave. 2001. Estudio de la hemostasia primaria y algunos parámetros de la coagulación en *Chaetophractus villosus* (Mammalia, Dasypodidae). *Hematología Argentina*. V.5-2, p.140.
56. Bermúdez, P. M.; N. N. Polini Freije y E. Casanave. 2002. Coagulación sanguínea en el armadillo *Chaetophratus villosus*: Factores e inhibidores. *In*: XVII Jornadas Argentinas de Mastozoología, Comunicación oral. Mar del Plata. Argentina.
57. Bermúdez, P. M. 2003. Estudio experimental de la hemostasia en el armadillo *Chaetophractus villosus* (Mammalia, Dasypodidae). Tesis de Doctorado en Bioquímica. *Mastozoología Neotropical*, 12 (1): 97-108, Mendoza. Argentina. SAREM, Resúmenes de Tesis 2005.
58. Bermúdez, P. M.; N. N. Polini y E. B. Casanave. 2004. A study of platelets in the armadillo *Chaetophractus villosus* (Xenarthra, Dasypodidae). *Platelets*, 15: (5), p.279 – 285.
59. Bernard. C. 1959. Introducción al estudio de la medicina experimental. Ed. El Ateneo, 1ra. Edición: 157-158.
60. Beverton, R. J. H. y S. J. Holt. 1956. A review of methods for estimating mortality rates in exploited fish populations, with special reference to sources of bias in catch sampling. *Rapp. P.-v. Réun. CIEM*, 140: 67-83.
61. Bianchini, J. J. Comunicaciones personales.
62. Billingham, R. y W. Neaves. 1980. Exchange of skin grafts among monozygotic quadruplets in armadillos. *J. Expl. Zool. Philad.*, 213 (2): 257-260.

63. Blair, C.B. Jr. 1970. The care and maintenance of the nine-banded armadillo in a laboratory environment. Bull. Georgia Acad. Sci. 28: 113-123.
64. Blood, D.C. y V.P. Studdert. 1988. Ballière's comprehensive veterinary dictionary. London: Ballière Tindall,: 265.
65. Boero, J.J. 1967. Parasitosis Animales. Tomo 1, 2 da. Edición, EUDEBA. (Bs. As.). Argentina.
66. Boero, J. J. y I. K. de Boehringer. 1967. El parasitismo de nuestra fauna autóctona. Revta. Fac. Cs. Vet. Año IX, N° 21, 147-160. La Plata, Argentina.
67. Booth, N. H. y L. E. McDonald. 1988. Farmacología y terapéutica veterinaria. Volumen 1 y 2. Ed. Acribia. Barcelona. España.
68. Borchert, A. 1964. Parasitología Veterinaria. Ed. Acribia. España. Págs. 745.
69. Bown, T. M. y E. L. Símon. 1984. First record of marsupials (*Metatheria: Polyprotodonta*) from the Oligocene in Africa. Nature, JOB, 447-449.
70. Brody, S. 1945. Bioenergetics and growth. Reinhold Publ. Co. New York 123 p.
71. Broom, D.M. 1986. Indicators of poor welfare. Brit. Vet. J.; 142: 524.
72. Burns, T.A. y E.B. Waldrip. 1971. Body temperature and electrocardiographic data for the nine banded armadillo (*Dasypus novemcinctus*). J. Mamm. 52: 472-473.
73. Cabrera, A. 1973. Biogeografía de América Latina. OEA. Series de Biología. Monografía N° 13.
74. Cabrera, A. y J. Yepes. 1940. Mamíferos sudamericanos. Compañía Argentina de Editores. Bs. As. Argentina.
75. Cabrera, A. y J. Yepes. 1960. Mamíferos Sudamericanos. (Segunda Edición). Historia Natural. Ediar. Bs. As. Argentina.
76. Cacchione, R.A.; J. M. Cascelli; J. M. Zuberbuhler y E. S. Martinez. 1966. Leptospirosis en animales silvestres. Aislamiento de una cepa de *Leptospira canicola* de un peludo (*Chaetophractus villosus*). Rev. Med. Vet. (Argentina), 47, (5): 363-365.
77. Cáceres, N.C. y E.L.A. Monteiro-Filho. 1997. Reproductive biology of the common opossum, *Didelphis marsupialis* (Mammalia: Marsupialia), in southern Brazil. Brenesia 47-48: 117-124.
78. Cáceres, N.; I. R. Ghizoni Jr. y M. E. Graipel. 2002. Diet of two marsupials, *Lutreolina crassicaudata* and *Micoureus demerarae*, in a Coastal Atlantic Forest island of Brazil. Mammalia 66:331-340.
79. Cain, D.P. 1974. The role of the olfactory bulb in limbic mechanisms. Psychol. Bull., 81(10): 654-671.

80. Campagna, C., M. R. Papini, y J. M. Affanni. 1984. El comportamiento agresivo del armadillo *Chaetophractus villosus* en condiciones de laboratorio. *Rev. Lat. Psicol.* 16: 27.
81. Campion, R.L. 1950. Receptividad del *Chaetophractus villosus* (Peludo) al virus de la fiebre aftosa. *Gac. Vet. (Argentina)*. Tomo XII, N° 63: 3-14.
82. Campion, R.L. 1959. Patogenicidad del *Bacillus anthracis* y del *Clostridium chauvoei* para *Chaetophractus villosus* (Peludo). *Rev. Med. Vet. (Argentina)*. N° 40: 23-27.
83. Carreira, J. C.; A. M. Jansen; H. Lenzi y M. P. Deane. 1996. Histopathological study of *Didelphis marsupialis* natural and experimental infections by *Trypanosoma cruzi*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 91: 609-618.
84. Casagrande, R. A.; M. de Oliveira Cesar; M. C. Horta; S. Rossi; R. H. Teixeira y E. R. Matushima. 2009. Perfil hematológico de gambás *Didelphis aurita* e *D. albiventris* do Estado de São Paulo, Brasil. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*. Maringa, v. 31, n. 2, p. 185-189.
85. Casanave, E. 1989. Estudio sobre las reacciones fisiológicas de *Chaetophractus villosus* sometido a enterramiento experimental. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 144 pp.
86. Casanave, E. y J. Affanni. 1994. Body temperature of the armadillo *Chaetophractus villosus* (Mammalia, Dasypodidae). *Arch. Int. Physiol. Biochim. Bioph.* 102: 243-246.
87. Casanave E. B. y N. N. Polini. 1999. Comparative study of some haematological parameters of two wild *C. villosus* (Mammalia, Dasypodidae) populations. *Comparative Haematology International*. London: Springer-Verlag.. vol. 9 n. 1 p.13-16 ISSN 0938-7714
88. Casanave, E. B.; P. M. Bermúdez y N. N. Polini Freije. 2005. Haemostatic mechanisms of the armadillo *Chaetophractus villosus* (Xenarthra Dasypodidae). *Comparative Clinical Pathology*. , v.13, p.171 – 175.
89. Casanave, E. B.; P. M. Bermúdez y N. N. Polini. 2006. Principal coagulation factors and natural anticoagulants in the armadillo *Chaetophractus villosus*. (Xenarthra, Dasypodidae). *Comparative Clinical Pathology*, 14(4):210-216.
90. Casanave, E. B. y E. J. Galíndez. 2008. The spleen of the armadillo. Lessons of organ adaptation. Pp. 120-125. In *The Biology of the Xenarthra* (S. F. Vizcaíno and W. J. Loughry, Eds.). University Press of Florida, Gainesville.

91. CCAC (Canadian Council on Animal Care). 1998 a. Vol. I. (2nda edición), Capítulo II: Instalaciones para los Animales de Laboratorio. Capítulo VI: Las necesidades sociales y comportamentales de los animales de experimentación.
92. CCAC (Canadian Council on Animal Care). 1998 b. Vol. I. (2nda edición), Capítulo VI: Las necesidades sociales y comportamentales de los animales de experimentación.
93. CCAC (Canadian Council on Animal Care). 1998 c. Vol. I. (2nda edición), Capítulo IX: Normas para la cirugía en animales de experimentación.
94. CCAC (Canadian Council on Animal Care). 1998 d. Vol. I. (2nda edición), Capítulo X: Control del dolor animal en la investigación, la enseñanza y pruebas.
95. CCAC (Canadian Council on Animal Care). 1998 e. Vol. I. (2nda edición), Capítulo XI: La anestesia.
96. CCAC (Canadian Council on Animal Care). 1998 f. Vol. I. (2nda edición), Capítulo XII. Eutanasia
97. Cerqueira, R. 1985. Distribution of *Didelphis* in South America (*Polyprotodontia, Didelphidae*). J. Biogeogr. 12: 135–145.
98. Cervino, C. 1997. MS. Estudio cuantitativo de dos nuevos ritmos bioeléctricos de los bulbos olfatorios registrados en el armadillo sudamericano *Chaetophractus villosus* (Mammalia, Dasypodidae). Tesis Doctoral, Fac. de Cs. Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. 529 pp.. Publicación inédita: con copias para consulta en la Biblioteca de la Fac. de Cs. Exactas y Naturales – UBA.
99. Cervino, C.; C. Ferrari; P. Carmanchahi y J. Affanni. 1998. Alteraciones de la actividad bioeléctrica cerebral provocadas por cambios en la mucosa olfatoria. Publicaciones del XXIII Congreso Argentino de Neurociencias (AMA/AAN), Mar del Plata: 75. Argentina.
100. Cervino, C. 1999. MS. Nuevo ritmo alfa y actividad gamma en los bulbos olfatorios de un armadillo sudamericano: cuantificación y perspectivas futuras. Premio “Prof. Dr. Eduardo de Robertis”, al mejor trabajo de Neurociencia Básica. 455 pág.. Septiembre 1999. Publicación inédita: con copias para consulta en la Biblioteca de la Universidad de Morón.
101. Chabaud, A. G.; G. T. Navone y O. Bain. 1983. Description de *Mazzia bialata* n.Sp. parasite des *Dasypodides*. Attribution du genre aux Nématodes Spirocercidae. Bull. Mus. Natn. Hist. Nat., Paris, 4e sér., 5. sect A: 175-179.
102. Chapman, H. 1901. Observations upon the placenta and young of *Dasypus novemcinctus*. Proc. Acad. Nat. Sci., 53: 366-369.

103. Chedd, G. 1968. Armadillos, inheritance and individuality. *New Scientist.*, 39: 478.
104. Chiscano, K.A.; S. M. Hackleman; A. R. Underwood; W. Bigler; C. Kammerer; J. L. VandeBerg y W. H. Stone. 1993. Blood Groups in a Marsupial (*Monodelphis domestica*). *The Journal of Heredity*. The American Genetic Association, 84 (3): pp. 181-183.
105. Claes, E. 1939. Contribution a l'étude physiologique de la fonction visuelle. *Arch. Int. Physiol.* 48, 181-237.
106. Clark, W. 1951. Ecological life history of the armadillo in the eastearn Edwards Plateau region. *Am. Midl. Nat.*, 46(2): 337-358.
107. Codón, S. M. y E. B. Casanave. 1996. Histology of the ovary of the armadillo *Chaetophractus villosus* (*Mammalia, Dasypodidae*). *Rev. Brasil. Biol.*, 56(3): 599-604.
108. Codón, S. M.; S. G. Estecondo; E. J. Galíndez y E. B. Casanave. 2001. Ultrastructure and morphometry of ovarian follicles in the armadillo *Chaetophractus villosus* (*Mammalia, Dasypodidae*) *Brazil. J. Biol.*, 61(3): 485-496.
109. Coffin, D. 1986. *Laboratorio Clínico en Medicina Veterinaria*. La Prensa Médica Mexicana.
110. Coghill, G. E. 1939. Studies on rearing the opossum (*Didelphys virginiana*). *Ohio J Sci* 39: 239-249.
111. Cohen, B.J. 1959. The Early History of Animal Experimentation and Animal Care. I. Antiquity. *Laboratory Animal Science*, 9: 39-45.
112. Contreras, J. R. 1983. La comadreja overa. En: *Fauna Argentina*. N° 11. Centro Editor de América Latina. Buenos Aires. Argentina Págs.: 32.
113. Contreras, R. y B. Marchetti. 1984. Las mulitas. En: *Fauna Argentina* N° 34. M Palermo (ed). Centro Editor de América Latina. Bs. As. Argentina. Págs.: 32.
114. Coronel, J. C. 1985. Comunicación personal.
115. Corujeira, M.; H. Tirante; R. Grimoldi; A. Márquez; O. H. Iodice y J. M. Affanni. 1986. Hemogram and blood values of *Didelphis albiventris* and *Lutreolina crassicaudata* reared under laboratory conditions. *Regional / International Meeting on Laboratory Animals*. ICLAS-CEMIB-FESBE., Aguas de Lindoia, Brasil. Comunicación: P-2.8.
116. Crespo, J. 1944. Contribución al conocimiento de la ecología de algunos Dasipódidos (Edentata) argentinos. *Rev. Arg. Zoogeografía* 4: 7-39.
117. Cuba-Caparó, A. 1976. Some hematologic and temperature determinations in the 7-banded armadillo (*Dasypus hybridus*)., *Lab. Anim. Sci.* Jun;26(3):450-455.

118. Cuba-Caparó, A. 1977. The armadillo in biomedical research. Workshop on the armadillo: an animal model for research. Caracas, Venezuela, mayo 23-27.
119. Cutts, J.H.; W. J. Krause. 1980. Leukocytes in the peripheral blood of the developing opossum. *J Anat* 130: (1) 113-120.
120. D'Addamio, G. H.; G. P. Walsh; L. Harris; R. Borne y M. S. Derouen. 1978. Hematologic parameters for wild and captive nine-banded armadillos (*Dasypus novemcinctus*). *Lab Anim Sci. Oct*; 28(5):607-610.
121. Daniel, J. y R. Krishman. 1969. Studies on the relationship between uterine fluid components and the diapausing state of blastocysts from mammals having delayed implantation. *J. Exp. Zool.*, 172: 267-282.
122. Davis, J. A. Jr. 1966. Maverick opossums. *Animal Kingdom*, vol. 69, p. 112-117.
123. Deane, M. P.; A. M. Jansen y R. H. Mangia. 1983. Experimental infection of the opossum *Didelphis marsupialis* with different strains of *Trypanosoma cruzi*. 10th. Annual Meeting of Basic Research on Chagas' Disease. Caxambu, Brazil, Abstract BI-24.
124. Deane, M. P.; H. L. Lenzi y A. Jansen. 1984. *Trypanosoma cruzi*: vertebrate and invertebrate cycle in the same mammal host, the opossum *Didelphis marsupialis*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, R. de Janeiro (Brasil)* 79 (4): 513-515.
125. Deane, M. P.; H. L. Lenzi y A. M. Jansen. 1986. Double developmental cycle of *Trypanosoma cruzi* in the opossum. *Parasitology Today*. 2:146-147.
126. De la Sierra, T. 1996. ¿Qué es la cirugía experimental?. *Cir. Gen.*, 18:2. México.
127. de la Garza Rodea, A. S.; L. Padilla Sánchez; J. de la Garza Aguilar y R. Neri Vela. 2007. Algunas notas sobre la historia del laboratorio de cirugía experimental. Reflexiones sobre su importancia en la educación e investigación quirúrgica. *Cirugía y Cirujanos*. Vol. 75, nº 006. Academia Mexicana de Cirugía. Distrito Federal, México. pp. 499-505.
128. Delupi, L. H.; M. H. Carrera y J. J. Bianchini. 1997. Morfología comparada de la musculatura craneal en *Lutreolina crassicaudata* y *Didelphis albiventris* (Marsupialia: Didelphidae). *Revista Asociación Argentina de Ciencias Naturales "PHYSIS"*. Sec. C, 53 (124-125): 19-28.
129. De Nicola A. F. y J. M. Affanni. 1971. Biosynthesis of steroids by the adrenal glands of the peludo *ChaetophRACTUS villosus* a South-American armadillo. *Acta Physiol. Latinoam.* 21: 297-302.

130. Dezonne Motta, M. de F.; J.D. de Araujo Carreira y A. M. Ramos Franco. 1983. A note on reproduction of *Didelphis marsupialis* in captivity. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Río de Janeiro, Vol. 78 (4): 507-509.
131. Dills, G. G. y T. Manganiello. 1973. Diel temperature fluctuations of the Virginia opossum (*Didelphis virginiana virginiana*). J. Mammal 54:763-765.
132. Doty R. L. (Eds.). 1995. Handbook of Olfaction and Gustation. Marcel Dekker Inc., New York. 821 pp.
133. Eninger L. 1904. Vorlesungen über den Bau der nervösen Zentralorgane. FCW Vogel, Leipzig.
134. Einon, D. y M. Potegal. 1991. Enhanced defence in adult rats deprived of playfighting experience as juveniles. Aggressive Behaviour, 17(1): 27-40.
135. Eisenberg, J. 1989 a. Mammals of the Neotropics: The Northwest Neotropics. Vol.1. The University of Chicago. Chicago, Estados Unidos. 449 pp.
136. Eisenberg, J. 1989 b. Genus *Lutreolina*. En: Mammals of the Neotropics: The Northwest Neotropics. Vol.3. The University of Chicago. Chicago, Estados Unidos. Pp. 54-55.
137. Enders, A. 1960. Development and structure of the villous haemochorial placenta of the nine-banded armadillo (*Dasypus novemcinctus*). J. Anat., 94 (1): 34-45.
138. Enders, R. y D. Davis. 1936. Body temperatures of some Central American mammals. J. Mammal., 17: 165-167.
139. Engelmann, G. F. 1985. The phylogeny of the Xenarthra. In The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas. G. G. Montgomery, ed. Smithsonian Institution Press, Washington and London, p. 51-64.
140. Escobar Gutiérrez, A., y M. E. Amezcua de Bernés. 1981. El armadillo: un nuevo animal de experimentación para el estudio de las zoonosis. Ciencia Veterinaria vol. 3: cap. 7, Univ. Autón. de México. Fac. de Med. Vet. y Zootec. Mexico. Pgs. 200-229.
141. Estecondo, S. 1995. Las glándulas pelvianas de los armadillos (*Mammalia, Dasypodidae*). Tesis doctoral. Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca. Argentina.
142. Estes, R. 1972. The role of the vomeronasal organ in mammalian reproduction. Mammalia, 36: 315-341.
143. Farber, M. E. e I. N. Raizboim. 1996 – 2002.  
[www.surdelsur.com/flora/biogeogr/neotmap.htm](http://www.surdelsur.com/flora/biogeogr/neotmap.htm). Consultado: marzo 2009.
144. Feldhamer, G.A. 2003. Mammalogy: Adaptation, Diversity, and Ecology. San Francisco: McGraw-Hill.

145. Feldman, D.B. y J. L. Self. 1971. Sedation and anesthesia of the Virginia opossum, *Didelphis virginiana*. Lab Anim Sci 21: 717-720.
146. Fernández, M. 1909. Beiträge zur Embryologie der Gürteltiere, 1. Zur Keimblätterinversion und Spezifischen Polyembrionie der Mulita (*Tatusia hybrida* Desm.) Morph. JAHRB., Leipzig. Bd 39: 302.
147. Fernández, M. 1922. Sobre la glándula pelviana y formaciones similares en Desdentados recientes y fósiles. Rev. Museo de la Plata 26: 211-255.
148. Fernández, M. 1939. Sobre el desarrollo de los órganos en los embriones rudimentarios de la mulita (*Tatusia hybrida*). Phycis, 18: 1-13.
149. Ferrari, C.C.; H. J. Aldana Marcos; P. D. Carmanchai y J.M. Affanni. 1988. The olfactory mucosa of the South American armadillo *Chaetophractus villosus*: An ultrastructural study. Anatomical Record. 252, 325-339.
150. Ferrari, C. C.; P. D. Carmanchai; M. L. Bolkovic y J. M. Affanni. 1997. Breeding in captivity of the Southern lesser long-nosed armadillo *Dasypus hybridus* (*Edentata=Xenarthra: Dasypodidae*). Zoocriaderos. Vol. 2. Nº 3, pp. 01-05.
151. Ferrari, C. C.; P. D. Carmanchahi; H. J. Aldana Marcos y J. M. Affanni. 2000. Ultrastructural characterisation of the olfactory mucosa of the armadillo *Dasypus hybridus* (Dasypodidae, Xenarthra). Journal of Anatomy. 196, pp. 269-278, with 16 figures. Printed in Great Britain.
152. Flecknell, P.A. 1987. Laboratory animal anesthesia. Toronto, Ont.: Academic Press.
153. Flores P., E. y G. Cattaneo U. 2001. Técnicas anestésicas inyectables de uso actual II: Anestésicos inyectables. Monografías de Medicina Veterinaria, Vol.21 (1). Universidad de Chile. Santiago. Chile.
154. Ford, R. B. y E. Mazzaferro. 2007. Kirk y Bistner, Urgencias en veterinaria, procedimientos y terapéutica. Editorial Elsevier, 8ª ed., Madrid, España, pps. 826.
155. Fontana, H. J. 2008. Por el buen camino II. Rev. Argent. Neurocir., oct./dic., vol.22, no.4, p.p. VII-XII.
156. Fournier-Chambrillon C; I. Vogel; P. Fournier; B. de Thoisy y J.C. Vié. 2000. Immobilization of free-ranging nine-banded and great long-nosed armadillos with three anesthetic combinations. Journal of Wildlife Diseases; 36 (1):131-140.
157. Fowler, V. R. 1968. Body development and some problems of its evaluation in Growth and Development of Mammals. Butterworth, London.
158. Fowler, M.E. 1986. Zoo & wild animal medicine. Toronto, Ont.: W.B. Saunders Co.

159. Fox, R. C. 1971. Marsupial mammals from the early Campanean, Milk River Formation, Alberta, Canada. En D. M. Kermack y K. A. Kermak (Eds.) *Early Mammals*, (pp. 145-164) Londres: Journal of the Linnean Society (Zoology).
160. Fraser, A.F. 1989. (letters) Welfare and well-being. *Vet. Rec.*; 125(12): 332.
161. Frechkop, S. 1950. La locomotion et la structure des tatous et des pangolins. *Annls. Soc. Zool. Belg.*, Bruxelles, 80: 5-8.
162. Frechkop, S. y J. Yepes. 1949. Étude systématique zoogéographique des Dasypodidés conservés a l'Institut. *Bull. Inst. Roy. Sc.Nat.*, Bruxelles, 25(5):1-56.
163. Freedman, M. S.; R. J. Lucas; B. Soni; M. von Schantz; M. Muñoz; Z. David-Gray y R. Foster. 1999. Regulation of mammalian circadian behavior by non-rod, non-cone, ocular photoreceptors. *Science*; 284: 502-504.
164. Frey, Ch.; E. Bradley y H. Beger. 1988. Progress in acute pancreatitis. *Surg. Gynec. Obst.*, 167:282-286.
165. Galbreath, G. J. 1985. The evolution of monozygotic polyembryony in *Dasypus*. In *The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas*. G. G. Montgomery, ed. Smithsonian Institution Press, Washington and London, p. 243-245.
166. Gallino, M. I.; P. Antón; J. P. Luaces; J. Bustos; E. Aparicio y M. S. Merani. 2005. Estudio de los valores leucocitarios en especies de Dasypodidae en distintas localidades de Argentina. Pag.. 78. In *XX Jornadas Argentinas de Mastozoología* Buenos Aires, Nov 8-11.
167. García, H. A., O. M. Tiscornia, O. H. Iodice, R. J. Abello, J. M. Affanni, I. Sánchez, S. B. Zadcovich, y F. D. Torino. 1988 (a). Algunas consideraciones sobre la utilización del opossum sudamericano (zarigüeya), como modelo experimental en la pancreatitis aguda. Parte I. *Pren. Méd. Argent.*, 85 (1): 95-101. Bs. As. Argentina.
168. García, H. A., O. M. Tiscornia, O. Iodice, R. Abello, I. Flores, S. B. Zadcovich, F. Gasali, F. Sapin, L. G. Gauna Añasco, y J. Verges. 1988 (b). Algunas consideraciones sobre la utilización del opossum sudamericano (zarigüeya), como modelo experimental en la pancreatitis aguda. Parte II. *Pren. Méd. Argent.* 85 (8): 917-922. Bs. As. Argentina.
169. García, H. A.; O. M. Tiscornia; O. Iodice; P. Cal; F. J. Gasali; A. Maschietto; F. Sapin; G. Eufemio; S. Sutura; L. Uchiumi y J. Affanni. 2001 a. Acute experimental pancreatitis in the opossum. The role of prior truncular vagotomy on the inflammatory response. En: *Acta Gastroenterol Latinoam.* 31(5):387-93.

170. García. H. A.; C. Monti; F. Gasalli; M. Lejarraga; A. Maschietto; G. Eufemio; N. Molinelli-Wells y O. Tiscornia. 2001. b. Pancreatitis Aguda: Revisión etiopatogénica y evolutiva de 213 casos. Patología de Urgencia, Sección: Artículos Originales, 9, 4-
171. Garcia, H. A.; O. Iodice; W. M. Garcia; G. Otero; L. Uchiumi; J. Affanni; O. M. Tiscornia; G. Eufemio; S. Sutera; F. Sapin; P. Cap; J. Llaya Candiotti y A. Maschietto. 2002. Acute experimental pancreatitis in the opossum. The role of early splenectomy in the inflammatory response. En: Acta Gastroenterol Latinoam. 32(2):71-7.
172. Garcia de Osma, J.L. 1972. Husbandry and experimental breeding of seven-banded armadillo (*Dasypus hybridus*). Presentado al 5° Comité Científico Asesor del Centro Panamericano de Zoonosis. Bs. As. Argentina (Publicación restringida).
173. García Samartino, L; A.M. Scaravilli; J.M. Affanni y R.O. Cinto. 1974. Estudio cuantitativo de la vigilia y el sueño en *Chaetophractus villosus* (Mammalia, Dasypodidae). Physis (Sección C), Bs. As. 33: 145-150.
174. García Samartino, L. y J. Affanni. 1976. A new electric rhythm in the mammalian pars basalis rhinencephalic. Acta Physiol. Latinoam. 26: 518.
175. García Samartino, L; A. Gori; A. Scaravilli y J. Affanni. 1981. Participación central en el aumento espontáneo de las ondas sinusoidales inducidas del bulbo olfatorio y area piriforme durante el sueño de *Chaetophractus villosus*. Physis C. 39(97): 25-30.
176. García Samartino, L. 1983. La actividad eléctrica del bulbo olfatorio y la corteza prepiforme en *Chaetophractus villosus*. Estudio experimental de algunos de sus mecanismos de control. Tesis doctoral., Facultad de Medicina. Universidad de Buenos Aires. 213 pp.
177. Gardner, A. L. 1982. Virginia opossum. *Didelphis virginiana*. In: Chapman J. A, Feldhamer G. A. (Eds.) Wild mammals of North America: biology, management, and economics. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, pp 3-36.
178. Geiser, F. 1986. Temperature regulation in heterothermic marsupials. In: H.C. Heller; X. J. Musacchia and L.C.H. Wang, Editors, Living in the Cold: Physiological and Biochemical Adaptations. Elsevier. Sci. Pub. Co., New Cork.
179. Gilbert, M. y L. Giacometti. 1972. An environmental caging system and maintenance program for the nine-banded armadillo, *Dasypus novemcinctus*. Lab. An. Care. Vol. 22, N° 5: 739-740.
180. Golombek; D. A.; O. Iodice; R. Dezi y J. M. Affani. 1988. Characterization and analysis of the rest-activity and temperature cycles in *Didelphis albiventris*. Sarem. IV Jornadas Argentinas de Mastozoología. Noviembre. Tucumán. Argentina.

181. Golombek, D. A.; O. Iodice; R. Dezi; A. Estevez y J. M. Affani. 1991. Temperature in *Didelphis albiventris*. *Mammalia*. , v.55, n.2, p.310 - 313.
182. Graipel, M.; P. R M. Miller y A. Ximenez. 1996. Contribuição à identificação e distribuição das subespécies de *Lutreolina crassicaudata* (Desmarest) (Marsupialia, Mammalia). *Revista Brasileira de Zoologia*. 13:781–790. Brasil.
183. Grassè, P.P. 1955. *Traité de Zoologie*. Tome XVII: Mammifères. Masson et Cie. Editeurs.
184. Grassè, P. P. 1980. Vertebrados. Reproducción, biología, anatomía y sistemática. En *Zoología* (Dir.: P. P. Grassé). Ed. Toray-Masson. Barcelona. 4, 413 pp.
185. Greegor, D. Jr. 1975. Renal capabilities of an Argentina desert armadillo. *J. Mammal*, 56(3): 626-632.
186. Greegor, D. H., Jr. 1980. Preliminary study of movements and home range of the armadillo, *Chaetophractus vellerosus*. *J. Mammal*. 61:334-335.
187. Greegor, D. H., Jr. 1985. Ecology of the little hairy armadillo *Chaetophractus vellerosus*. In: *The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas*. G. G. Montgomery, ed. Smithsonian Institution Press, Washington & London, p. 397-405.
188. Green, C. J. 1982. *Laboratory animal handbook 8. Animal anesthesia*. London: Laboratory Animals Ltd.
189. Gulland, J. A. 1983. *Fish stock assessment: a manual of basic methods*. Chichester, U.K., Wiley Interscience, FAO/Wiley series on food and agriculture, Vol. 1: 223 pp.
190. Gutiérrez Samperio, C. 2000. El modelo experimental en cirugía. *Perspectiva histórica*. *Cir. Gen.*, 22: 3, 272-278. México.
191. Hall, L.W. y K. W. Clarke. 1991. *Veterinary anesthesia*. 9th Ed. Toronto, Ont.: Baillière Tindall.
192. Hammond, J. 1960. *Farm animals*. Edward Arnold Publishers Ltd., 3<sup>a</sup> ed, London, VIII, 322 p.
193. Hartman, C. G. 1916. Studies in the development of the opossum *Didelphys virginiana* L. I. History of early cleavage. II. Formation of the blastocyst. *J Morphol* 27:1-83.
194. Hartman, C. G. 1919. Studies in the development of the opossum *Didelphys virginiana* L. III. Description of new material on maturation, cleavage and ectoderm formation. IV. The bilaminar blastocyst. *J Morphol* 32:1-142.
195. Hartman, C.G. 1923 a. Breeding habits, development and birth of the opossum. *Smithsonian Report for 1921*, pp. 347-364.

196. Hartman, C.G. 1923 b. The oestrous cycle in the opossum. *Am J Anat* 32:353-421.
197. Hartman, C. G .1952. Possums. University of Texas Press, Austin, TX, pp 1-147.
198. Herbst, L. H.; A. I. Webb; R. M. Clemmons; M.R. Dorsey-Lee y E.E. Storrs. 1989. Plasma and erythrocyte cholinesterase values for the common long-nosed armadillo, *Dasyus novemcinctus*. *J. Wildl. Dis.*; 25(3):364-369.
199. Herrick, J. 1933. The functions of the olfactory parts of the cerebral cortex. *Proc. Nat. Ac. Sci.*, 19: 7-14.
200. Higginbotham, A. C. y W. E. Koon. 1955. Temperature regulation in the Virginia opossum. *Am J Physiol.* Apr; 181(1): 69-71.
201. Hoffstetter R. 1972. Relationships, origins, and history of the ceboid monkeys and caviomorph rodents: A modern reinterpretation. *Evol. Biol.*; 6: 322-347.
202. Hollands, C. 1980. Compassion is the bugler. The struggle for animal rights. Edinburgh: Macdonald Publishers.
203. Holliday, T. A. y C. Williams. 1999. Clinical Electroencephalography in dogs. *Veterinary neurology and neurosurgery, electronic journal*. Disponible en: <<http://www.neurovet.org>>
204. Hossler, R. J.; J. B. McAninch y J. D. Harder. 1994. Maternal denning behavior and survival of juveniles in opossums in southeastern New York. *J. Mammal.* 75: 60–70.
205. Howie, M. y D. Smith. 1994. General Anesthetics: Intravenous Drugs. *In: Modern Pharmacology. Fouth Edition, C. R. Craig (ed.). Little, Brown and Company: 353-360.*
206. Humphrey, S. 1974. Zoogeography of the nine-banded armadillo (*Dasyus novemcinctus*) in the United States. *Bioscience*, 24(8): 457-462.
207. Hunsaker II, D. 1977. Biology of marsupials. Academic Press. New York. 537 pp.
208. Hunsaker II, D. y D. Shupe. 1977. Behavior of New World marsupials. En: D. Hunsaker II (Ed.) *Biology of marsupials* (págs. 95-158). Academic Press. New York.
209. Iglesias, A.; L. Sanchez y J. A. Carril. 2007 Analisis de la curva de crecimiento de animales de la raza porcina celta mediante la ecuación de Michaelis-Menten. [www.feagas.es/documentos/Actividades/48-Iglesias-2.pdf](http://www.feagas.es/documentos/Actividades/48-Iglesias-2.pdf). Consultado: marzo 2009.
210. Iodice, O. H.; R. Petersen; L. García Samartino y J. M. Affanni. 1985. Utilización de *Lutreolina crassicaudata* como modelo experimental en fisiología. *Comunicación: N° 41. 1 ras. Jor. Argent. de Mastozoología*, Mendoza, Argentina.
211. Iodice, O. H. y J. M. Affanni. 1986. Successful procedures for obtaining reproduction of *Chaetophractus villosus* and *Chaetophractus vellerosus* in laboratory

- conditions. Regional / International Meeting on Laboratory Animals. ICLAS-CEMIB-FESBE., Aguas de Lindia, Brasil. Comunicación: P-2.21.
- 212.** Iodice, O. H.; R. E. Dezi y J. M. Affanni. 1986 a. Reproduction and growth of *Lutreolina crassicaudata* in laboratory conditions. Regional / International Meeting on Laboratory Animals. ICLAS-CEMIB-FESBE., Aguas de Lindoia, Brasil. Comunicación: P-2.23.
- 213.** Iodice, O. H.; J. M. Affanni; M. Corujeira; H. Tirante; R. Grimoldi y A. Marquez. 1986 b. Hemogram and blood values of *Chaetophractus villosus* and *Chaetophractus vellerosus* reared under laboratory conditions. Regional / International Meeting on Laboratory Animals. ICLAS-CEMIB-FESBE., Aguas de Lindoia, Brasil. Comunicación: P-2.22.
- 214.** Iodice, O. H. 1987. On the importance of Marsupials and Armadillos in Biomedical Research. Their maintenance and reproduction in laboratory conditions. En: Proceeding of the Regional / International Meeting on Laboratory Animals. ICLAS-CEMIB-FESBE. Noviembre. Aguas de Lindoia, Brasil. pp. 292:302.
- 215.** Iodice, O. H. 1988. La zarigüeya (*Marsupialia, Didelphidae*) como modelo animal en investigaciones biomédicas. Una revisión. Rvta. Med. Vet. (Bs. As.) 69 (6): 306-313.
- 216.** Iodice, O. H.; D. A. Golombek; y J. M. Affanni. 1988 a. Determinación de las fases del ciclo estral en dos marsupiales americanos (*Didelphidae*): *Didelphis albiventris* y *Lutreolina crassicaudata* bajo condiciones de bioterio. XVI Congreso de la Asociación Latinoamericana de Ciencias Fisiológicas. Comunicación 1237. Mayo. Bs. As. Argentina.
- 217.** Iodice, O. H.; D. A. Golombek; V. Gonzalez Rosada y J. M. Affanni. 1988 b. Anestesia y sedación de dos marsupiales americanos (*Didelphidae*): *Didelphis albiventris* y *Lutreolina crassicaudata* bajo condiciones de laboratorio. XVI Congreso de la Asociación Latinoamericana de Ciencias Fisiológicas. Comunicación 1236. Mayo. Bs. As. Argentina.
- 218.** Iodice, O. H.; D. A. Golombek y J. M. Affanni. 1988 c. Técnica para el estudio de la citología vaginal exfoliativa en zarigüeyas (*Marsupialia, Didelphidae*). Comunicación: P 232. VI Congr. Arg. de Cs. Veterinarias. Agosto. Bs. As. Argentina.
- 219.** Iodice, O. H. y J. M. Affanni. 1988 a. Animales de laboratorio no tradicionales. Mantenimiento y reproducción en condiciones de bioterio de *Didelphis albiventris* y

- Lutreolina crassicaudata* (Marsupialia, Didelphidae). Comunicación: P 230. VI Congr. Arg. de Cs. Veterinarias, Agosto. Bs. As. Argentina.
220. Iodice, O. H. y J. M. Affanni. 1988 b. Animales de laboratorio no tradicionales. Mantenimiento y reproducción en condiciones de bioterio del género *Chaetophractus* (*Xenarthra* = *Edentata*, *Dasypodidae*). Comunicación: P 231. VI Congr. Arg. de Cs. Veterinarias, Agosto. Bs. As. Argentina.
221. Iodice, O. H.; C. O. Cervino y J. M. Affanni. 2007. Observaciones sobre las condiciones de mantenimiento y reproducción de *Lutreolina crassicaudata* en laboratorio. Revta. Med. Vet. (Bs. As., Argentina); 88, (4): 164 – 170.
222. Iodice, O. H.; C. O. Cervino y J. M. Affanni. 2009. Una técnica para la extirpación de los órganos vomeronasales en el armadillo *Chaetophractus villosus*. Abordaje desde la cavidad bucal. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria. En prensa.
223. Jacob, C. y C. Onelli. 1913. Atlas del cerebro de los mamíferos de la República Argentina. Estudios anatómicos, histológicos y biológicos comparados sobre la evolución de los hemisferios cerebrales y de la corteza cerebral. Imprenta de Guillermo Krapt, Bs. As., Argentina.
224. Jansen, A. M.; L. Leon; G. M. Machado; M. H. Da Silva; S. M. Souza-Leão y M. P. Deane. 1991. *Trypanosoma cruzi* in the opossum *Didelphis marsupialis*: Parasitological and serological follow-up of the acute infection. Exp. Parasitol. 73: 249-259.
225. Jansen, A. M y M. P. Deane. 1994. *Trypanosoma cruzi* in the opossum *Didelphis marsupialis*: absence of neonatal transmission and partial protection by maternal antibodies in experimental infections. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 89: 41-45.
226. Julien-Laferrière, D. y M. Atramentowicz. 1990. Feeding and reproduction of three Didelphid Marsupials in two Neotropical Forest (French Guiana). Biotropica 22: 404–415.
227. Jurgelski, W. Jr. 1971. Administration of test material to the neonatal North American opossum *Didelphis marsupialis virginiana* Kerr. Lab. Anim. Sci., 21 (5): 748-751.
228. Jurgelski, W. Jr .1974. The opossum (*Didelphis virginiana* Kerr) as a biomedical model. I. Research perspective, husbandry, and laboratory technics. Lab Anim Sci 24:376-403.
229. Jurgelski, W. Jr.; W. Forsythe; D. Dahl; L. D. Thomas; J. A. Moore; P. Kotin; H. L. Falk y F. S. Vogel. 1974. The opossum (*Didelphis virginiana* Kerr) as a biomedical

- model. II. Breeding the opossum in captivity: facility design. *Lab. Anim. Sci.* 24:404-411.
- 230.** Jurgelski, W. Jr. y M. E. Porter. 1974. The opossum (*Didelphis virginiana* Kerr) as a biomedical model. III. Breeding the opossum in captivity: methods. *Lab. Anim. Sci.* 24:412-425.
- 231.** Jurgelski, W. Jr. 1976. Embryonal neoplasms in the opossum: A new model for solid tumors of infancy and childhood. *Science.* 193:328-332.
- 232.** Jurgelski, W. Jr. 1979. The marsupial as a laboratory animal. *Ilar News.* 22 (3): 18-21.
- 233.** Kappers, A.; C. C. Huber y E. C. Crosby. 1960. The comparative anatomy of the nervous system of vertebrates including man. Hafner Publishing Company, New York. EE.UU.
- 234.** Kawasaki, A. 2000. Horner's syndrome. In: Gilman S, editor. *Medlink-Neurobase.* San Diego: Arbor Publishing, 2<sup>da</sup> edition.
- 235.** Keast, A. 1972. Evolution, mammals, and southern continents. Edited by Allen Keast, Frank C. Erk [and] Bentley Glass. Albany, State University of New York Press.
- 236.** Keast, A. 1977. Historical biogeography of the marsupials. En B. Stonhouse y D. Gilmore (Eds.). *The biology of marsupials*, (pp 69-95). Baltimore: University Park Press.
- 237.** Kelly, W.R. 1983. *Diagnóstico Clínico Veterinario.* 5<sup>o</sup> Edición. Méjico. Compañía Editorial Continental.
- 238.** Kirchheimer, W. 1976. Significance of nine-banded armadillo in biomedical leprosy research. *Leprosy in India.* 48 (4): 419-427.
- 239.** Kirchheimer, W. F. y E. E. Storrs. 1971. Attempts to establish the armadillo (*Dasypus novemcinctus* Linn.) as a model for the study of leprosy. I. Report of lepromatoid leprosy in an experimentally infected armadillo. *Int J Lepr Other Mycobact Dis.* 39(3):693-702.
- 240.** Kirsch, J. A. 1977. The classification of marsupials. In: D. Hunsaker ed. *The Biology of Marsupials.* New York, Academia Press, pp 150.
- 241.** Korhonen, H.; H. Tukiainen y M. Harri. 1990. Effect of group and sex combination on productive performance of farmed polecats. *Zeitschrift für Versuchstierkunde* 33(2):79-83.

242. Korhonen, H. y M. Harri. 1992. Social influences on weight gain in farm-raised polecats. [Faktorer som paaverkar maarddjurens tillvaext.] Finsk Paelstidskrift 26(8-9):202-204.
243. Kraft, W. y U. M. Durr. 2000. Diagnóstico Clínico de Laboratorio en Veterinaria. Grass Ediciones (Editores Médicos)
244. Kratskin, I. 1995. Functional anatomy, central connections, and neurochemistry of the mammalian olfactory bulb. In: R. Doty (Eds.). Handbook of Olfaction and Gustation. Marcel Dekker, Inc. New York, pp. 103-126.
245. Krause, W.J. y J. H. Cutts. 1992. Development of the digestive system in the North American opossum (*Didelphis virginiana*). Adv Anat Embryol Cell Biol 125:1-151
246. Krause, W. J. 1998 a. A review of histogenesis/organogenesis in the developing North American opossum (*Didelphis virginiana*). Adv Anat Embryol Cell Biol Vol I. 143:1-143.
247. Krause, W. J. 1998 b. A review of histogenesis/organogenesis in the developing North American opossum (*Didelphis virginiana*). Adv Anat Embryol Cell Biol Vol II. 143:1-120.
248. Krupp, J. H. y R. Quillin. 1964. A review of the use of the opossum for research-husbandry, experimental techniques and routine health measures. Lab Anim Care 14:189-194.
249. Kudjakova T. I.; N. Y. Sarycheva y A. A. Kamensky. 2007. Characteristics of exploratory behavior and the level of uneasiness of white nonpurebred rats after extirpation of the vomeronasal organ (VNO). Dokl Biol Sci. May-Jun; 41:208-11.
250. Langrehr, D. y R. Müller. 1967. Significance of CI-581 for anesthesiology in veterinary medicine with special attention to zoo animals. Proceeding of the Ninth International Symposium on Diseases of Zoo Animals. Praga.
251. Larsen, P. J.; L. W. Enquist y J. P. Card. 1998. Characterization of the multisynaptic neuronal control of the rat pineal gland using viral transneuronal tracing. Eur J Neurosci; 10: 128-145.
252. Lawson, P. T. 1999. Técnico auxiliar de animales de laboratorio: ALAT manual de entrenamiento. American Association for Laboratory Animal Science. Memphis, USA.Pp.216.
253. Lemos, B. y Cerqueira, R. 2002. Morphological differentiation in the white-eared opossum group (*Didelphidae: Didelphis*). Journal of Mammalogy, 83(2):354–369.

- 254.** Lerch, M.M., A. K. Saluja; R. Dawra; P. Ramarao; M. Saluja y M. L. Steer. 1992. Acute necrotizing pancreatitis in the opossum. Earliest morphologic changes involve acinar cells. *Gastroenterology*; 103:205-213.
- 255.** Lerch, M.M.; A. K. Saluja; V. Rünzi; R. Dawra; M. Saluja y M. L. Steer. 1993. Pancreatic duct obstruction triggers acute necrotizing pancreatitis in the possum. *Gastroenterology*; 4:853-861.
- 256.** Lewis, J. H. y A. P. Doyle. 1964. Coagulation, protein and cellular studies on armadillo blood. *Comp. Biochem. Physiol.* May; 12: 61-66.
- 257.** Lewy, A. J.; T. A. Wehr; F. K. Goodwin; D. A. Newsome y S. P. Markey. 1980. Light suppresses melatonin secretion in humans. *Science*; 210: 1267-1269.
- 258.** Lindemann, T. y R. Campos. 2003. Sistematização, distribuição e território da artéria cerebral média na superfície do encéfalo em *Didelphis albiventris* (gambá). *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, vol.40, n.5, pp. 349-358.
- 259.** Lipps, B.V. 1999. Anti-lethal factor from opossum serum is a potent antidote for animal, plant and bacterial toxins. *J Venom Anim Toxins [Online]* 5: 1-16.
- 260.** Lipps, B. V. 2000. Small synthetic peptides inhibit, in mice, the lethality of toxins derived from animal, plant and bacteria. *J Venom Anim Toxins [Online]* 6: 1-10.
- 261.** Litter, M. 1988. *Farmacología Experimental y Clínica*. 7ª ed. El Ateneo.
- 262.** Llewellyn, L.M. y F.H. Dale. 1964. Notes on the ecology of the opossum in Maryland. *J. Mammal.* 45: 113–122.
- 263.** Lombardero, O. 1970. Algunos helmintos de los *Dasipódidos* (Armadillos) en Argentina. V Jornadas Internacionales. Fac. Cienc. Vet. La Plata (Argentina). Tomo II – 93.
- 264.** Lombardero, O. J. y R. A. Moriena. 1973. Nuevos helmintos de la comadreja overa (*Didelphis azarae*) para la Argentina. *Revta. Med. Vet. (Bs. As.)* 53 (4): 315-320.
- 265.** Lombardero, O. J. y R. A. Moriena. 1977. *Mazzia mazzia* (Khalil and Vogelsang, 1932) en dasipódidos de la Argentina (Redescripción). *Re. Med. Vet.* 58: 141-142.
- 266.** Loo P., E. Meer, C. Kruitwagen, J. Koolhaas, Z. Zutphen y V. Boumons. 2004. Long term effects of husbandry procedures on stress-related parameters in male mice of two strains. *Laboratory Animals*; 38 (2): 169-177.
- 267.** López, M. y P. Mellado. 2000. Síndrome de Claude Bernard-Horner. Cuadernos de Neurología Vol. XXIV. Departamento de Neurología. Escuela de Medicina. P. Universidad Católica de Chile.

[http://escuela.med.puc.cl/paginas/publicaciones/Neurologia/cuadernos/2000/pub\\_10\\_2000.html](http://escuela.med.puc.cl/paginas/publicaciones/Neurologia/cuadernos/2000/pub_10_2000.html) (consultado: marzo 2009)

- 268.** López, S.; J. France; W. J. J. Gerrits; M. S. Dhanoa; D. J. Hunphries y J. Dijkstra. 2000. A generalized Michaelis-Menten equation for the analysis of growth. *Journal of Animal Science*, v.78, p.1816-1828.
- 269.** Lord, R. 1977. The captured, care, transportation and distribution of armadillos as animal models for health research. Workshop on the armadillo: an animal model for research. Caracas, Venezuela, mayo 23-27.
- 270.** Luaces, J.P.; A. G. Faletti y M. S. Merani. 2007. Determinación de hormonas sexuales esteroideas en materia fecal en *Myrmecophaga tridáctila*. XXI Jornadas Argentinas de Mastozoología de la Sociedad Argentina para el Estudio de los Mamíferos. SAREM. Tafí del Valle, Tucumán, Argentina.
- 271.** Luaces J.P.; E. Aparicio; R. Mira; P. Antón; H. J. Aldana Marcos; M. S. Lizarralde y M. S. Merani. 2005. Método de extracción de sangre en condiciones de esterilidad a armadillos en el campo. XX Jornadas de Mastozoología. Buenos Aires. Comunicaciones Anat. Fis. Biogeog. Comport. Comunicación Libre.
- 272.** Lumb, W.V. y E.W. Jones. 1984. *Veterinary anesthesia*. Philadelphia, PA: Lea and Febiger.
- 273.** Maccio, O. A., M. I. O. de Rott, E. H. Resoagli, S. G. de Millán, M. E. C. de Gallardo, M. M. Ramírez y J. P. Resoagli. 1988. Patología natural y adquirida en cautividad del armadillo. *Análisis anatomopatológico*. *Vet. Arg.* 5: 218-227.
- 274.** Magalhaes, O. de y A. Rocha. 1944. Contribuição para o conhecimento do tifo exantemático neotrópico no Brasil. *Mem. Inst. Os. Cruz*, 40: 1-8.
- 275.** Malhado, C. H. M.; A. A. Ramos; P. L. S. Carneiro; J. C. Souza; F. S. Wechsler; J. P. Eler; D. M. M. R. Azevedo y J. R. B. Sereno. 2008. Modelos no lineales para describir el crecimiento de bufalinos de la raza Murrah. *Arch. Zootec.* 57 (220): 497-503. *Inst. de Zoot. Fac. de Vet. Córdoba. España.*
- 276.** Marckowitz, J.; J. Archibald y G.H. Downie. 1967. *Cirugía experimental y fisiología quirúrgica*. 5ª ed. Ed. Interamericana. Mexico.
- 277.** Marek, J. y J. Mócsy. 1973. *Diagnóstico clínico de las enfermedades internas de los animales domésticos*. 4ta. edición. Ed. Labor. España. Págs. 675.
- 278.** Mares, M. A. y J. K. Braun. 2000. Systematics and natural history of marsupials from Argentina. *Eugene D. Fleharty Festschrift*, 1: 23-45.

279. Margalef, R. 1980. La biosfera: entre la termodinámica y el juego. Ed. Omega, Barcelona. España. 236 pp.
280. Marin-Padilla, M. y K Bernirschke. 1963. Thalidomide induced alterations in the blastocyst and placenta of the armadillo *Dasypus novemcinctus mexicanus* including a choriocarcinoma. Am. J. Path., 43. 999-1016.
281. Marin-Padilla, M. y K Bernirschke. 1965. Thalidomide injury to the myocardium of armadillo embryos. J. Embryol. Exp. Morph., 13 (3): 235-241.
282. Maroñas, M. 2006. T. P. N° 6 Crecimiento individual. Guía de Trabajos Prácticos. Cátedra de Ecología de Poblaciones. Facultad de Ciencias Exactas y Museo. Universidad Nacional de La Plata. Bs. As. Argentina.  
[http://www.fcnym.unlp.edu.ar/catedras/ecopoblaciones/TP/Maro2006.Crecimiento individual en peces.pdf](http://www.fcnym.unlp.edu.ar/catedras/ecopoblaciones/TP/Maro2006.Crecimiento%20individual%20en%20peces.pdf) (consultado: marzo 2009).
283. Marshall, L. 1978. *Lutreolina crassicaudata*. Mammalian Species, 91: 1-4.
284. Marshall, L. G.; S. D. Webb; J. J. Sepkoski y D. M. Raup. 1982. Mammalian evolution and the great american interchange. Science, 215, 1351-1357.
285. Martel, K. L. y M. J. Baum. 2007. Sexually dimorphic activation of the accessory, but not the main, olfactory bulb in mice by urinary volatiles. Eur J Neurosci. Jul; 26(2):463-75. Epub 2007 Jul 10.
286. Martin, G. F. y X. M. Wang. 1997. Development and development plasticity of descending spinal pathways in the North American opossum, *Didelphis virginiana*. In: Saunders, N. R.; Hinds, L. A. (eds) Marsupial biology: recent research, new perspectives. Univ. New South Wales Press, Sydney, Chapt 21, pp 358-481.
287. Martin, G. F.; J. R. Terman y X. M. Wang. 2000. Regeneration of descending spinal axons after transection of the thoracic spinal cord during early development in the North American opossum, *Didelphis virginiana*. Brain Res Bull 53: 677-687.
288. Martin, R. E.; R. H. Pine y A. F. DeBlase. 2001. A Manual of Mammalogy. San Francisco: McGraw-Hill.
289. Martinez, F. A. 1984. *Hamanniella carinii* Travassos, 1916 (*Acantocephalo; Gigantorhynchidae*) in dasypodids of Argentina. Boletín Chileno de Parasitología 39: 37-38.
290. Martinez, F.A. 1986. Helmintofauna de los mamíferos silvestres. Trematodes. Vet. Arg. (Bs. As.), Vol. III (26): 544-551.
291. Martínez, F. A. 1988. Artrópodos de la fauna silvestre. I. Insectos y arácnidos. Veterinaria Argentina 5: 411-417.

292. Martínez, F. A. y E. H. Resoagli. 1982. Artrópodos y helmintos en Dasipódidos del nordeste argentino. *Gac. Vet. (Bs. As., Argentina)* 44 (373): 799-803.
293. Martínez Esteve, P. 1937. Le cycle sexual chez le marsupial *Didelphis azarae*. *C. R. Soc. Biol. Paris.* 124: 502-504.
294. Marshall, L. 1978. *Lutreolina crassicaudata*. *Mammalian Species*, 91: 1-4.
295. Marshall, L. G.; S. D. Webb; J. J. Sepkoski y D. M. Raup. 1982. Mammalian evolution and the great american interchange. *Science*, 215, 1351-1357.
296. Massoia, E.; A. Forasiepi y P. Teta. 2000. Los marsupiales de la Argentina. Editorial L.O.L.A. (Literature of Latin America), Buenos Aires 71 pp.
297. Matthes, E. 1932. Wietere geruchsdressuren an neerschweinchen. *Z. vergl. Physiol.* 17: 464-490.
298. Matthews, L. 1971. The life of mammals. The Weindelfeld and Nicholson Natural History. London. Vol. II: 117-131.
299. Mazza, S.; K. Schürmann y H. Gutdeutsch. 1931. Estudio comparado de la infección natural y experimental del quirquincho de Jujuy por *Trypanosoma cruzi*. 7ma. Reunión So. Arg. Patol. Reg. Norte Tucumán, (5 – 7 Oct.), 2, 964-969.
300. Mazzini, A. R.; J. A. Muniz; F. Fonseca y L. Henrique de Aquino. 2004. Equação de Michaelis-Menten generalizada na análise de crescimento de bovinos. 49ª Reunião da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria. Brasil.
301. McCrady, E. Jr. 1938. The embryology of the opossum. *Am Anat Mem* 16:1-233.
302. McKenna, M. C. 1975. Toward a phylogenetic classification of the mammalia. Phylogeny of the primates. pp. 21-46. Plenum Press, New York.
303. McKenna, M. C. y S. K. Bell, (Eds.). 1997. Classification of mammals above the species level. Columbia University Press, New York.
304. McLaughlin, S. 1988. Anaesthesia-Barbiturates. Part I and II. *CALAS (Can. Assoc. Lab. Anim. Sci.) Newsl.*; 20(5): 104-110.
305. McManus, J. J. 1969. Temperature regulation in the opossum, *Didelphis marsupialis virginiana*. *J Mammal* 50 (3): 550-558.
306. McManus, J. J. 1974. *Didelphis virginiana*. *Mammalian Species*. Ed.: The American Society of Mammalogists. 40, pp. 1-6.
307. McNab, B. K. 1980. Energetics and the limits to a temperate distribution in armadillos. *J. Mammal.*, 61: 606-627.
308. McNab, B. K. 1985. Energetics, population biology, and distribution of Xenarthrans, living and extinct. In *The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas*.

- G. G. Montgomery, ed. Smithsonian Institution Press, Washington, London, p. 219-232.
- 309.** McNab, B. K. 1986. Food habits, energetics, and the reproduction of marsupials. *Journal of Zoology*, London 208: 595-614.
- 310.** Meijer, M. 2006. The effect of routine experimental procedures on physiological parameters in mice kept under different husbandry conditions. *Animal Welfare*; 15 (1): 31-38.
- 311.** Merani, M. S. 2009. Comunicación personal.
- 312.** Merrit, Jr., D.A. 1973. Edentate diets. I. Armadillos, *Lab. Anim. Sci.* 23, (4): 540-542.
- 313.** Meyer, D. y Y. Harvey. 1999. *El Laboratorio en Medicina Veterinaria. Interpretación y Diagnóstico.* Editorial Interamericana. Buenos Aires.
- 314.** Meyers, W.; G. Walsh; C. Binford; E. Storrs y H. Brown. 1978. Indigenous Leprosy in nine-banded armadillos. In: *The armadillo as an experimental model for biomedical resear.* Scientific Publication N° 366. Pan American Health Organization. Washington: 67-76.
- 315.** Mira, R.; M. Ciuccio; P. González; E. Casanave; P. Cetica y M. S. Merani. 2005. Metodología para la determinación de esteroides en materia fecal en armadillos. XX Jornadas de Mastozoología. Comunicaciones Libres: Anat. Fisiol. Biogeog. Comport. Buenos Aires. Argentina
- 316.** Mohedano-Moriano, A.; P. Pro-Sistiaga; I. Ubeda-Banon; C. Crespo; R. Insausti y A. Martínez-Marcos. 2007. Segregated pathways to the vomeronasal amygdala: differential projections from the anterior and posterior divisions of the accessory olfactory bulb. *Eur. J Neurosci.* Vol. 25, n° 7, p. 2065-2080.
- 317.** Monteiro-Filho, E. L. A. y V. S. Dias. 1990. Observações sobre a biologia de *Lutreolina crassicaudata* (Mammalia: marsupialia). *Revista Brasileira de Biologia*, 50: 393–399. Brasil.
- 318.** Montero, R, y A. Autino. 2004. *Sistemática y filogenia de los Vertebrados, con énfasis en la fauna argentina.* Tucumán, Argentina. Publicación 1512: 317 pags.
- 319.** Moore, C.R. y D. Bodian. 1940. Opossum pouch young as experimental material. *Anat. Rec.* 76:319-327.
- 320.** Moore, D. M. 1983. Venipuncture sites in armadillos (*Dasypus novemcinctus*). *Lab. Ani. Sci.*; 33:384-385.

321. Moore, D. M. 1984. A simple technique for blood collection in the opossum (*Didelphis virginiana*). *Laboratory Animals*, 18, 52-54.
322. Moore, R.Y.; J. C. Speh; y J. P. Card. 1995. The retinohypothalamic tract originates from a distinct subset of retinal ganglion cells. *J Comp Neurol*; 352: 351-366.
323. Muir, W. W. y J. A. E. Hubbell. *Handbook of veterinary anesthesia*. Toronto, Ont.: C. V. Mosby Co., 1989.
324. Mustaca, A. E. y G. Haut. 1985. Percepción visual de profundidad en la zarigüeya *Didelphis albiventris*. *Revta. Latinoamer. de Psicología*, 17: 73-78.
325. Myers, D.M.; A. Cuba Caparo y J. Payán Moreno. 1977. Aislamiento del serotipo *Hardjo* y otras Leptospiras de Armadillos de Argentina. *Bull. Of Sanit. Panam.*, 83, (1), 56-64.
326. NIH. (National Institutes of Health, Department of Health and Human Services). 2002. *Institutional Animal Care and Use Committee Guidebook*. 2nd ed. Office of Laboratory Animal Welfare. Bethesda, MD.; p. 210.
327. Navone, G. T. y O. Lombardero. 1980. Estudios parasitológicos en edentados argentinos. I. *Pterygodermatites (Pterygodermatites) chaetophracti sp. nov.* En *Chaetophractus villosus* y *Dasypus hybridus (Nematoda Spirurida)*. *Neotropica* 26 (75): 65-70.
328. Navone, G. T. 1983. Estudios parasitológicos en Edentados Argentinos. Tesis Doctoral. Fac. Cs. Nat., Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina, 423 pp.
329. Navone, G. T. 1983. Comunicación personal.
330. Navone, G. T. 1986. Estudios parasitológicos en edentados argentinos. II. Nematodes parásitos de armadillos: *Aspidodera fasciata* (Schneider, 1866); *Aspidodera scoleciformis* (Diesing, 1851) y *Aspidodera vazi* Proença, 1937. (*Nematoda-Heterakoidea*). *Neotropica* 32: 71-79.
331. Navone, G. T. 1987. Estudios parasitológicos en edentados argentinos. III. Nematodes Trichostrongylidos, *Macielia elongaa sp. nov.*; *Moennigia virilis sp. nov.* y *Trichohelix tuberculata* (Parona y Stossich, 1901) Ortlepp, 1922 (*Molineidae-Anoplostrongylinae*) parásitos de *Chaetophractus villosus* Desmarest y *Tolypeutes matacus* (Desmarest). (*Xenarthra - Dasypodidae*). *Neotropica* 33: 105-117.
332. Navone, G. T. 1988 a. Estructura de la infracomunidad parasitaria de *Chaetophractus villosus* Desmarest, de la provincia biogeográfica pampeana (Cabrera y Willink, 1973). IV Jornadas Argentinas de Mastozoología, p. 46.

333. Navone, G. T. 1988 b. Estudios parasitológicos en edentados argentinos. IV. Cestodes pertenecientes a la familia *Anoplocephalidae cholodkovsky*, 1902, parásitos de dasypodidos. *Neotropica* 34: 51-61.
334. Newman, H. H. 1913. The natural history of the nine-banded armadillo in Texas. *Am. Nat.* 47: 513-539.
335. Nowak, R. 1991. Thick-tailed opossum. En: *Walker's Mammals of the World*, 5th ed. Baltimore: Johns Hopkins University Press.
336. O'Connell, M.A. 1979. Ecology of didelphid marsupials from Northern Venezuela. In: (J.F. Eisenberg, Ed) *Vertebrate ecology in Northern Neotropics*. Smithsonian Institution Press, Washington, DC. pp. 73-87.
337. Olfert E. D.; B. M. Cross y A. A. Mc William. 1998. Guide to the care and use of experimental animals, Vol 1. 2nd ed. Ontario: Canadian Council on Animal Care; p. 211.
338. Olson, M.E. 1986. A simple anaesthetic chamber. *Lab. Anim. Sci.*; 36: 703.
339. Opie, E.L. 1901. The etiology of acute hemorrhagic pancreatitis. *Bull Johns Hopkins Hospita*; 12:182-188.
340. Oría, A.; J. Alvarez; L. Chiappetta; J. C. Spina; N. Hernández y col. 1991. Coledocholithiasis in acute gallstone pancreatitis. Incidence and clinical significance. *Arch. Surg.*; 126: 566-568.
341. Ozorio de Almeida, A. y B.de Almeida Fialho. 1924. Température et métabolisme du Tatou (*Tatusia novemcincta*). *C.R. de la Soc. de Biol.* 90: 734-735.
342. Pacheco, J. y C. J. Naranjo. 1978. Field ecology of *Dasypus sabanicola* in the Flood Savanna of Venezuela. Pp. 13-17. In *The armadillo as an experimental model in biomedical research* Caracas, Venezuela.
343. Paddleford, R. R. (Eds.). 1988. *Manual of small animal anesthesia*. New York, NY: Churchill Livingstone.
344. Padoa, E. 1963. *Historia de la vida sobre la Tierra*. Editorial Universitaria de Buenos Aires. 302 pp. Bs. As. Argentina.
345. Papanicolaou, G. M. 1942. A new procedure for staining vaginal smears. *Science* 95 (2469): 438-439.
346. Papanicolaou, G. M. 1954. *Atlas of exfoliative cytology*. Cambridge, Harvard University Press.
347. Papini, M. R. 1986. Psicología comparada de los Marsupiales. *Revta. Latinoamer. de Psicología*, 18 (2): 215-246.

- 348.** Papini, M. R.; A. E. Mustaca y J. M. Affanni. 1984. Spatial learning in South American opossum and armadillos. *Journal of General Psychology*. 111: 45-55.
- 349.** Pascual, R. 1984. Late Tertiary mammals of southern South America as indicators of climatic deterioration. En J. Rabassa (Ed.), *Quaternary of South America and Antarctic Peninsula*, (pp. 1-30). Rotterdam: Balkema.
- 350.** Patterson, B. y R. Pascual. 1968. Evolution of mammals on southern continents. The fossil mammal fauna of South America. *The Quarterly Review of Biology* 43: 409-451.
- 351.** Paterson, B. y R. Pascual. 1972. The fossil mammal fauna of South America. En A. Keast; F. C. Erk y B. Glass (Eds.), *Evolution, mammals and Southern continents*, (pp 247-310). Albany, Nueva York: State University of New York Press.
- 352.** Pauly, D. 1984. Fish population dynamics in tropical waters a manual for use with programmable calculators. *ICLARM Studies and Reviews* 8, 325p. International Center for Living Aquatic Resources Management, Manila, Philippines.
- 353.** Pauly, D. and G.R. Morgan (eds.). 1987. Length-based methods in fisheries research. *ICLARM Conf. Proc.*, (13): 468 pp.
- 354.** Payne, A. P. 1994. The Harderian gland: a tercentennial review. *J. Anat.* 185:1-49.
- 355.** Pérez Carusi, L. 2006. Estudio de la biología reproductiva y la parasitología de la zarigüeya overa (*Didelphimorpha*, *Didelphiae*, *Didelphis albiventris*) en una zona rural de la Provincia de Buenos Aires. Tesis de Licenciatura. Departamento de Ecología, Genética y Evolución. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 60 págs.
- 356.** Perkins Hidalgo, G. 1963. Leyendas y supersticiones del Iberá. En: Cuadernos del Instituto Nacional de Antropología. N° 4. Buenos Aires. Argentina. pp. 253-282.
- 357.** Petersen, R.; O. H. Iodice; L. García Samartino y J. M. Affanni. 1984. Observaciones sobre el mantenimiento y reproducción del marsupial *Lutreolina crassicaudata* en condiciones de laboratorio. *Comunicación: N° 100*, 7mas. Jornadas Argentina de Zoología, Mar del Plata, Argentina.
- 358.** Petrides, G. A. 1949. Sex and age determination in the opossum. *J. Mammal.* 30: 364-378.
- 359.** Pizarro G., M. E.; V. Campos L., S Irarrazaval D.; T Mesa L.; R Escobar H. y M. Hernández. 2006. Síndrome de Horner pediátrico: Análisis de 5 casos. *Rev Chil Pediatr* 77 (1); 61-66.
- 360.** Planel, H. 1953. Etudes sur la physiologie de l'organe de Jacobson. *Archs. Anat. Histol. Embryol.* 36: 199-205.

- 361.** Pocock, R. 1913. On dorsal glands of armadillos. J. Zool.: 1099-1103.
- 362.** Polini, N. N. y E. Casanave. 1998. Morphometric study of blood leucocytes from Armadillo *Chaetophractus villosus*. Biocell. V. 22, p.2 - 2.
- 363.** Polini, N. N.; R. E. Camina y E. B. Casanave. 1999. Morphological and morphometrical study of the blood leukocytes from *Chaetophractus villosus* (Mammalia, *Dasypodidae*). Comparative Hematology International. , v.9, n.3, p.162 - 167.
- 364.** Polini, N. N.; P. M. Bermúdez y E. Casanave. 2001. Estudio preliminar de un modelo animal para el estudio experimental de la hemostasia, patologías asociadas y su terapéutica. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana. , n.2, p.100.
- 365.** Poljak, S.; G. Deferrari; P. González; J. Bustos; M. Lizarralde y M.S. Merani. 2004. Un método de muestreo para estudios moleculares y citogenéticos en armadillos (fam. *Dasypodidae*). Congreso Nacional de Conservación de la Biodiversidad. Nov. Temaikèn, Escobar, Prov. de Bs. As., Argentina. Libro de Resúmenes.
- 366.** Potegal, M. y D. Einon. 1989. Aggressive behaviors in adult rats deprived of playfighting experience as juveniles. Developmental Psychobiology, 22(2): 159-172.
- 367.** Potkay, S. 1970. Diseases of the opossum (*Didelphis marsupialis*): a review. Lab. Anim. Care 20:502-511.
- 368.** Potkay, S. 1977. Diseases of marsupials. In: Hunsaker D II (Ed) The biology of marsupials. Academic Press, New York, Chapt 8, pp 415-506.
- 369.** Purtilo, D. T.; G. P. Walsh; E. E. Storrs y C. Gannon. 1975. The immune system of the nine-banded armadillo (*Dasypus novemcinctus*, Linn) The Anatomical Record. Volume 181 Issue 4, Pages 725 – 733.
- 370.** Putter, A. 1920. Studien über physiologische Ähnlichkeit. VI. Wachstumsähnlichkeiten. Pflüger Arch. Ges. Physiol., 180: 298-340.
- 371.** Quevedo, F.; J. Lastra y B. Martínez. 1978. The armadillo as a reservoir host of salmonella. In: Armadillo as an experimental model for biomedical research. Scientific Publication. N° 366. Pan American Health Organization, Washington. D.C. pp. 115-117.
- 372.** Reig, O. 1981. Teoría del origen y desarrollo de la fauna de mamíferos de América del Sur. Museo Municipal de Ciencias Naturales Lorenzo Seaglia., Mar del Plata, Argentina.

- 373.** Regidor, H. A. y M. Gorostiague. 1996. Reproduction in the white eared opossum (*Didelphis albiventris*) under temperate conditions in Argentina. Stud. Neotrop. Fauna E. 31: 133– 136.
- 374.** Regidor, H.; M. Gorostiague y S. Sühring. 1999. Reproduction and dental age classes of the little water opossum (*Lutreolina crassicaudata*) in Buenos Aires, Argentina. Rev. Biol. Trop, vol.47, no.1-2, p.271-272.
- 375.** Reiter, R. J. 1991. Pineal melatonin: Cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. Endocrine Reviews; 12: 151-180.
- 376.** Resoagli, E. H.; A. Martinez; S. G. Resoagli; S. G. Millán; M. I. O. Rott y M. Martinez. 1982. Mycobacteriosis natural en armadillos similar a lepra humana. Gac. Vet. 44: 674-676.
- 377.** Resoagli, E. H.; S. G. Millán; A. R. Martínez; J. P. Resoagli; M. M. Ramírez y M. I. O. de Rott. 1986. El armadillo en su etapa de adaptación al cautiverio. Vet. Arg. 3: N° 23, May., 258-264.
- 378.** Reynolds, H. C. 1952. Studies on reproduction in the opossum (*Didelphis virginiana virginiana*). Univ Calf Publ Zool 52: 223-283.
- 379.** Ricker, W. E. 1975. Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. Bull. Fish. Res. Board Can., (191): 382 pp.
- 380.** Riquelme, L. 1995. Bases neurofisiológicas de las señales bioeléctricas cerebrales. En: Análisis computado del EEG. Buenos Aires. FADEC. pp. 32-41.
- 381.** Robinson, E. S. y J. L. Vandenberg. 1994. Blood collection and surgical procedures for the laboratory opossum (*Monodelphis domestica*). Lab. Anim. Sci.; 44: 63–68.
- 382.** Rodríguez Gil, D.; F. Stolowicz; G. Somoza; J. King y J. Affanni. 1996. Identificación y distribución anatómica de mGnRH (gonadotropin releasing hormone) en el encéfalo del armadillo *Chaetophractus villosus* (*Dasypodidae*). Actas de las XI Jornadas Argentinas de Mastozoología: 53.
- 383.** Rodríguez Sosa, V. M. y J. R. Pérez Idaboy. 2004. La importancia del cirujano veterinario en un departamento de Cirugía experimental. Revista Electrónica de Veterinaria REDVET®, ISSN 1695-7504, Vol. V, n° 7, 7. España.
- 384.** Roig V. G. 1969. Regulación de la temperatura en *Euphractus sexcintus*. Physis, Vol. XXIX, N° 78, págs. 27-32.
- 385.** Roig; V. 1971. Observaciones sobre la termorregulación en *Zaedyus pichiy*. Acta Zool. Lilloana, 28: 13-18.

- 386.** Roig, V. G. y O. E. Henriquez. 1984. Regulación de la temperatura en *Chaetophractus villosus* (Mammalia - Edentata). *Ecosur, Argentina* 11: 39-49.
- 387.** Romaña, C. y K. Schürmann. 1931. La infección espontánea y experimental del Tatú del Chaco Santafecino por *Tripanosoma cruzi*. 7ma. Reunión So. Arg. Patol. Reg. Norte Tucumán, (5 – 7 Oct.), 2, 969-980.
- 388.** Romer, A. S. 1966. Vertebrate paleontology. (3° Ed.). Chicago: University of Chicago Press.
- 389.** Romer, A. 1965. Man and the vertebrates. Penguin R Books. G. Britain. vol. 1.
- 390.** Rünzi, V.; A. K. Salija; M. M. Lerch; R. Dawra; H. Nishino y M. L. Steer. 1993. Early ductal decompression prevents the progression of biliary pancreatitis. An experimental study in the opossum. *Gastroenterology*; 105:157-164.
- 391.** Sakai T. 1981. The mammalian Harderian gland: morphology, biochemistry, function and phylogeny. *Arch. Histol. Jpn. Sep*; 44(4):299–333.
- 392.** Sakai T. 1989. Major ocular glands (harderian gland and lacrimal gland) of the musk shrew (*Suncus murinus*) with a review on the comparative anatomy and histology of the mammalian lacrimal glands. *J. Morphol.* 201, 39-57.
- 393.** Sakai T. 1992. Comparative anatomy of mammalian Harderian gland. In: *Harderian Glands*. Eds. Webb, Hoffman, Puig-Omingo and Reiter. pp. 7-23. Berlin.
- 394.** Sampietro, J. C. 1978. Coccidiosis en armadillos. *Gac. Vet. Bs. As., Argentina*, 40: 560-562.
- 395.** Samuel, I.; Y. Toriumi; D. Wilcockson y R. J. Joehl. 1993. Pathogenesis of pancreatic duct obstruction induced acute pancreatitis in opossums is influenced by duodenal exclusion of pancreatic enzymes. *Am. J. Surgery*; 165:742(A).
- 396.** Santa Cruz, A.; O. Prieto; O. Lombardero; L. Gómez y N. Scheibler. 1998. First Finding of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille 1806), (Acari: Ixodidae) infesting *Didelphis albiventris* (Marsupialia: Didelphidae) in the Province of Corrientes, Argentina. XXIII World Veterinary Congress of the Small Animal Veterinary Association. Sección Póster. 5 al 9 de octubre. Buenos Aires, Argentina.
- 397.** Santa Cruz, A.; T. Borda; A. Montenegro; L. Gomes; O. Prieto y N. Scheibler. 1999. Estudio de ecto y endoparasitos de *Didelphis albiventris* (Comadreja overa), Marsupialia, Didelphidae. *Comunicaciones Científicas y Tecnológicas de la de la Secretaria General de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional del Nordeste*. Tomo IV. 25 de octubre. Argentina.

- 398.** Santori, R. T.; O. Rocha-Barbosa; M. V. Vieira; J. A. Magnan-Neto y M. F. C. Loguercio. 2005. Locomotion in aquatic, terrestrial, and arboreal habitat of thick-tailed opossum, *Lutreolina crassicaudata* (Desmarest, 1804). Journal of Mammalogy. Baltimore. Tomo 86, N° 5; Pg. 902, 7 pgs.
- 399.** Sarich, V. M. 1985. Xenarthran systematics: Albumin immunological evidence. In The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas. G. G. Montgomery, ed. Smithsonian Institution Press, Washington and London, p. 77-81.
- 400.** Saunders, N. R. y L. A. Hinds. 1997. Marsupial biology: recent research, new perspectives. University of New South Wales Press, Sydney.
- 401.** Scalia, F. y S. S. Winans. 1975. The differential projections of the olfactory bulb and accessory olfactory bulb in mammals. J. Comp. Neur., vol. 161, p. 31-56.
- 402.** Scaravilli, A.; A. Gori; J. Affanni y L. Garcia Samartino. 1972. Efectos de la estriquina y del clorhidrato de ketamina sobre la actividad eléctrica del bulbo olfatorio y el lóbulo piriforme de *Chaetophractus villosus*. Revta. Soc. Argent. Biol. 48-49: 36.
- 403.** Scaravilli, A. M.; J. M. Affanni y L. García Samartino. 1974. Sobre la existencia de un ritmo theta registrable a nivel neocortical en *Lutreolina crassicaudata paranalis*. Physis (Buenos Aires) C, 33: 151-155.
- 404.** Schalm, O., N. Jain y E. Carrol. 1981. Hematología veterinaria. (1a Ed.) Hemisferio Sur. Buenos Aires (Arg.) 857 p.
- 405.** Schenk, M. A. M.; F. A. Avina; J. D. Lima y J. P. A. Schenk. 1976. Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em tatus (*Dasypus novemcinctus*) capturados em Minas Gerais, Brasil. Arq. Esc. Vet. U.F.M.G., Brasil, 28, (1), 33-35.
- 406.** Scholander, P.; L. Irving y S. Grinnell. 1943. Respiration of the armadillo with possible implications as to its burrowing. J. Cell Comp. Physiol., 21: 53-63.
- 407.** Schutte, A. P. 1967. Canine vaginal cytology. J. Small Anim. Pract. 8: 301-317.
- 408.** Schweigmann, N. J., 1994. Aspectos Ecológicos de una Población Santiagueña de la Comadreja Overa (*Didelphis albiventris*) en Relación con la Transmisión de *Trypanosoma cruzi*. Tesis de Doctorado, Buenos Aires: Facultad de Ciencias Exactas, Universidad de Buenos Aires.
- 409.** Schweigmann, N.; S. Pietrokovsky; V. Bottazzi; O. Conti; M. Bujas y C. Wisnivesky-Colli. 1999. Estudio de la prevalencia de la infección por *Trypanosoma cruzi* en zarigüeyas (*Didelphis albiventris*) en Santiago del Estero, Argentina. Rev Panam Salud Publica, vol.6 n.6 Washington.

410. Scillato-Yane, G. 1982. Los *Dasypodidae* (*Mammalia*, *Edentata*) del Plioceno y Pleistoceno de Argentina. Tesis Doctoral. Fac. de Cs. Nat. UNLP.
411. Scott, H. y R. J. Kolata. 1982. Anesthesia for the North American opossum (*Didelphis virginiana*). *Laboratory Animal Science* 32: 433.
412. Senninger, N.; F. G. Moody; J. C. Coelho y D. H. van Buren. 1986. The role of biliary obstruction in the pathogenesis of acute pancreatitis in the opossum. *Surgery*. Jun; 99(6):688-693.
413. Shepherd, G. M.; M. C. Nowycky; C. A. Greer y K. Mori. 1981. Multiple overlapping circuits within olfactory and basal forebrain systems. In: G. Székey; E. Lábos y S. Damjanovich (Eds.). *Neural Communication and Control*. *Adv. Physiol. Sci.*, 30: 263-278.
414. Sherwood, B. F.; D. T. Rowlands Jr; D. B. Hackel y J. C. LeMay. 1969. The opossum, *Didelphis virginiana*, as a laboratory animal. *Lab. Anim. Care*. 19 (4): 494-499.
415. Sigé, B. 1972. La faunule de mammifères du Crétacé supérieur de Laguna Umayo (Andes préviennne). *Bulletin du Musée National de Histoire Natural*, 99, 375-408.
416. Silva Sasso, W. D. y O. Della Serra. 1965. Observações sobre as estruturas de dentes de xenartros pertenientesaos gêneros *Dasyopus*, *Euphractus* e *Bradypus* (*Edentata*, *Mammalia*). *Ver. Brasil. Biol.*, 25: 157-164.
417. Simpson, G. 1948. Early mammals in South American: fact, controversy and mystery. *Proc. Amer. Philos. Soc.* 122: 318-329.
418. Simpson, G. 1964. Evolución y geografía. EUDERA, Buenos Aires.
419. Smith, A.C. y M.M. Swindle (Eds.). 1994. Research animal Anesthesia, Analgesia and Surgery. Proceeding of a Conference Sponsored by SCAW held in Atlanta, Georgia. *Scientists Center for Animal Welfare (Publs.)*, 170 pp.
420. Soibelzon, E.; G. Daniele; J. Negrete; A. A. Carlini y S. Plischuk. 2007. Annual diet of the little hairy armadillo, *Chaetophractus vellerosus* (*Mammalia*, *Dasypodidae*), in Buenos Aires province, Argentina. *Journal of Mammalogy* 88:1319-1324.
421. Squarcia, S.; E. Casanave y G. Cirone. 1993. Morfología craneana de *Chaetophractus villosus* (Desmarest, 1804) (*Mammalia*, *Dasypodidae*). *IHERINGIA*, Sér. Zool (75): 55-61.
422. Steer, M. y A. Saluja. 1993. Experimental acute pancreatitis: studies of the early events that lead to cells injuries. *The pancreas biology, photobiology and disease*. 2ª ed. Raven Press. Cap 24.

423. Stein, B. R. 1989. Bone density and adaptation in semiaquatic mammals. *Journal of Mammalogy* 70:467–476.
424. Storrs, E. E y R. J. Williams.1968. A study of monocigotus quadruplet armadillos in relation to mammalian inheritance. *Proc. Nat. Acad. Sci. (USA)*, 60: 910-914.
425. Storrs, E. E. 1989. Armadillos in leprosy research: current status. *Int. J. Lepr.* 57: 30.
426. Storrs, E. E. 1971. The nine banded armadillo: A model for leprosy and another research. *Int. J. Lepr.*, 39: 703-714.
427. Storrs, E. E y R. J. Williams.1968. A study of monocigotus quadruplet armadillos in relation to mammalian inheritance. *Proc. Nat. Acad. Sci. (USA)*, 60: 910-914.
428. Storrs, E. E. y W. E. Greer. 1973. Maintenance and husbandry of armadillo colonies. *Lab. Anim. Sci.* 23: 823-829.
429. Storrs, E. E.; G. Walls; H. Burchfield y C. Binford. 1974. Leprosy in the armadillo: new model for biomedical research. *Science*, 183 (4127): 851-852.
430. Storrs, E. E. y H. P. Burchfield. 1984. Epidemiology of leprosy in wild armadillos. *Int. J. Lepr.* 52: 734.
431. Storrs, E. E. y H. P. Burchfield. 1989. Delayed birth. *Nature* 340: 106.
432. Storrs, E. E.; H. P. Burchfield y R. J. Rees. 1989. Reproduction delay in the common long-nosed armadillo. In *Advances in neotropical mammalogy*. R. Eisenberg, ed. Sandhill Crane Press, Gainesville, Florida, p. 535-548.
433. Stoskopf, M. K.; R. E. Meyer; M. Jones y D. O. Baumbarger. 1999. Field Immobilization and Euthanasia of American Opossum. *Journal of Wildlife Diseases*, 35 (1), 1999, pp. 145–149.
434. Sunquist, M. E. y J. F. Eisenberg. 1993. Reproductive strategies of female *Didelphis*. *Bull. Florida Mus. Nat. Hist. Biol. Sci.* 36: 109–140.
435. Sykes, W. S. 1960. Essays on the first hundred years of anesthesia. En: *Survey of Anesthesiology*. 4 (6): 595-597. Livingstone, ed. Edinburgo y Londres.
436. Szabuniewicz, M.; H. Hoff y J. McCrady. 1970. Spontaneous ventricular defibrillation in the armadillo. *Cardiovascular Research Center Bull.*, 8 (4): 135-147.
437. Talmage, R. V. y G. D. Buchanan. 1954. The Armadillo (*Dasypus novemcinctus*). A Review of its Natural History, Ecology, Anatomy and Reproductive Physiology. *The Rice Inst. Pamph.* 41, N° 2.
438. Tentoni, J.; N. N. Polini y E. B. Casanave. 2005. ¿Es *Chaetophractus villosus* un buen modelo para el estudio de la citoquímica hematológica? In: XX Jornadas

- Argentinas de Mastozoología. Buenos Aires. Libro de resúmenes de la SAREM. , 2005. p.82.
- 439.** Tentoni, J; N. N: Polini y E. Casanave.2007. Citoquímica Hematológica en el Mamífero Autóctono *Chaetophractus villosus*. Hematología. Buenos Aires: Sociedad Argentina de Hematología. Vol. 11 n. 3 p.216-219.
- 440.** Thompson, R. N.; A. Napier y K. S. Wekesa. 2007. Chemosensory cues from the lacrimal and preputial glands stimulate production of IP3 in the vomeronasal organ and aggression in male mice. *Physiol Behav.* Apr 23; 90(5):797-802. Epub 2007 Jan 20.
- 441.** Timmons, E.H. y P. A. Marques. 1969. Blood chemical and hematological studies in the laboratory-confined, unanesthetized opossum, *Didelphis virginiana*. *Lab. Anim. Sci.* 19: (3) 342-344.
- 442.** Tiscornia; O. M.; D. Celener; C. J. Pereg; E. S. De Lehmann; M. Cresta y D. A. Dreiling. 1983. Physiopathogenic basic of alcoholic pancreatitis: the affects of elevated cholinergic tone and increased “pancreon” ecbolic response to CCK-PZ. *The Mount Sinai journal of medicine, New York* 50(5): 369-87.
- 443.** Tiscornia, O. M.; M. Cresta; E. Lehmann y D. Dreiling D. 1986 a. Estrogen effects on exocrine pancreatic secretion in menopause induced chronic pancreatitis. *Mt. Sinai J. Med.*; 53: 358-367.
- 444.** Tiscornia, O. M.; D. Dreiling; I; Vaccaro; G. Negri; D. Celener; E. L. Calvo; M. A. Cresta y C. J. Pereg. 1986 b. Hipotesis fisiopatogénica de la pancreatitis alcohólica. *Medicina*; 46: N° 5, 616-624.
- 445.** Tiscornia, O. M. y D. Dreiling. 1986. Sex, age and pancreas. *Int. J. Pancreatol.*; 1: 95-118.
- 446.** Tiscornia, O. M.; H. García; J. M. Affanni; G. Otero y P. Tiscornia-Wasserman. 1999. Blood changes in acute pancreatitis induced by balloom disteation of the PeriVaterian Duodenum in the Opossum and the effects of previous truncal vagotomy and bilateral splanchnicectomy. *Am. J. Gastroenterol.*; 94: 2638 (A).
- 447.** Tiscornia, O. M.; S. Hamamura; E. S. de Lehmann; G. Otero; H. Waisman; P. Tiscornia-Wasserman y S. Bank. 2000. Biliary acute pancreatitis: a review. *World J. Gastroentero.*, 2000; 6 (2): 157-168
- 448.** Tiscornia, O. M.; J. Yacomotti y R. J. Losardo. 2002. Investigación y revisión conceptual de la inervación gastro-duodeno-pancreática en ratas. *Rev. Chil. Anat.*, vol.20, n.1, pp. 37-48.

449. Tyndale-Biscoe, C. H. and R. B. MacKenzie. 1976. Reproduction in *Didelphis marsupialis* and *D. albiventris* in Colombia. *J. Mammal.* 57: 249–265.
450. Tyndale-Biscoe, C. H. 1979. Ecology of small marsupials. In *Ecology of Small Mammals*. (D.M. Stoddard, ed.), Pp. 343-379. Chapman & Hall, London. England.
451. Tyndale-Biscoe, C. H. y P. A. Janssens. 1988. The developing marsupial: models for biomedical research. Springer: Berlin, Heidelberg.
452. Universidad Autónoma de Barcelona. Estadios Anestésicos. Monitorización de la Anestesia General.  
<http://uab.es/veterinaria/21271/monitorizacion.doc>. Consultado: marzo 2009.
453. University of Minnesota. Research Animal Resources. Surgery.  
<http://www.ahc.umn.edu/rar/surgery.html>. Consultado: marzo 2009.
454. Ursin, E. 1982. Stability and variability in the marine ecosystem. *Dana*, 2: 51-67.
455. Vaccarezza, O. L. y J. M. Affanni. 1964. Actividad bioeléctrica del bulbo olfatorio del marsupial *Didelphis azarae* (comadreja o zarigüeya). *Rvta. Soc. Argent. Biol.* 40: 9-13.
456. Vaccarezza, O. L. y J. M. Affanni. 1966 a. Influencia de los bulbos olfatorios sobre el sueño del marsupial *Didelphis azarae*. *Rvta. Soc. Argent. Biol.* 42: 106-111.
457. Vaccarezza, O. L. y J. M. Affanni. 1966 b. Bioelectric activity of the olfactory bulb of the opossum, *Didelphis azarae*. *C R Seances Soc Biol Fil*; 160 (3):691-3.
458. Vaccarezza, O. L. y J. M. Affanni. 1968. Influence of the olfactory bulbs on sleep in the marsupial *Didelphis azarae*. *C R Seances Soc Biol Fil*; 162(8):1609-1610.
459. Vaughan, T.; J. Ryan y N. Czaplewski. 1999. *Mammalogy*. Philadelphia: Saunders College Publishing.
460. VandeBerg, J. L. 1983. The gray short-tailed opossum: a new laboratory animal. *Institute of Laboratory Animal Resources News* 26:9–12.
461. VandeBerg, J. L. 1999. The laboratory opossum (*Monodelphis domestica*). In: Poole T, English P, editors. *UFAW Handbook on the Management of Laboratory Animal*. 7th edition, volume 1: Terrestrial Vertebrates. Oxford, U.K.: Blackwell Science Ltd.; pp. 193–209.
462. VandeBerg, J. L. y E. S. Robinson. 1997. The laboratory opossum (*Monodelphis domestica*) in biomedical research. En: *Marsupial biology. Recent research, new perspectives* (N. Saunders and L. Hinds, Eds.). University of New South Wales Press Ltd., Sydney, Australia. Pp. 238–253.

- 463.** Vaughan, T.A. 1972. Mammalogy. W.B. Saunders Company. Philadelphia, London, Toronto. 463pp.
- 464.** Vaughan, T.; J. Ryan y N. Czaplewski. 1999. Mammalogy. Philadelphia: Saunders College Publishing.
- 465.** Vizcaíno, S.F.; R. A. Fariña; M. S. Bargo y G. De Iuliis. 2004. Functional and phylogenetic assessment of the masticatory adaptations in *Cingulata* (*Mammalia*, *Xenarthra*). *Ameghiniana* 41: 651-664.
- 466.** von Bertalanffy, L.. 1938. A quantitative theory of organic growth. *Hum. Biol.* 10 (2): 181-213.
- 467.** Walker, E. P. 1968. Mammals of the world. The John Hopkins Press. Baltimore, 2<sup>nd</sup>. Ed. Vol. 1, pag. 482-503.
- 468.** Wampler, S. N. 1969. Husbandry and Health problems of armadillo, *Dasypus novemcinctus*. *Lab. Anim. Care.* N° 3, 391-393.
- 469.** Wang, X. M.; D. M. Basso; J. R. Terman y G. F. Martin. 1998 a. Adult opossums (*Didelphis virginiana*) demonstrate near normal locomotion after spinal cord transection as neonates. *Exp Neurol* 151: 50-69.
- 470.** Wang, X.M., J.R. Terman y G.F. Martin. 1998 b. Regeneration of supraspinal axons after transection of the thoracic spinal cord in the developing opossum, *Didelphis virginiana*. *J Comp Neurol* 398: 83-97.
- 471.** Weiss, L. y G. Wislocki. 1956. Seasonal variations in hematopoiesis in the dermal bones of the nine-banded armadillo. *Anat. Rec.*, 126 (2): 143-163.
- 472.** Wetzel, R. M. 1982. Systematic, distribution, ecology and conservation of South American edentates. In *Mammalian biology in South America*, Vol. 6. M. A. Mares, and H. H. Genoways, eds. *Spec. Publ. Ser., Pymatuning Lab. Ecol., Univ. Pittsburgh*, Pittsburgh, p. 1-539.
- 473.** Wetzel, R. M. 1985. Taxonomy and distribution of armadillos, Dasypodidae. In: *The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas*. G. G. Montgomery, ed. Smithsonian Institution Press, Washington and London, p. 23-46.
- 474.** Wilson, D. E. y D. M. Reeder (editors). 2005. *Mammal Species of the World. A Taxonomic and Geographic Reference* (3rd Ed). Johns Hopkins University Press. Baltimore.
- 475.** Winans, S.S. y J. B. Powers. 1977. Olfactory and vomeronasal desafferentation of male hamsters: histological and behavioral analysis. *Brain Res.* 126: 325-3440

- 476.** Wislocki, G. 1933. Location of the testes and body temperature in mammals. *The Quarterly Review of Biology*. VIII (4): 385-396.
- 477.** Wislocki, G. y R. Enders. 1935. Body temperature of sloths, anteaters and armadillos. *J. Mammal.*, 16 (4): 328-329.
- 478.** Wysocki, C.J.; Y. Katz y R. Bernhard. 1983. Male vomeronasal organ mediates female-induced testosterone surges in mice. *Biol. Reprod.*'28' 917-922.
- 479.** Yepes, J. 1928. Los Edentados argentinos. Sistemática y distribución. Trabajo final. *Rev. Univ. Bs. As. Serie 2, secc. 5, vol. 1, pag. 461-515.*
- 480.** Yepes, J. 1943. Observaciones y deducciones sobre letargo y temperatura en mamíferos. *Rev. Arg. Zoog.*, 3 (3): 123-128.
- 481.** Young, J. Z. 1977. *La vida de los vertebrados*. Editorial Omega, Barcelona, 660 pp.
- 482.** Zhang, X. and S. Firestein. 2002. The olfactory receptor gene superfamily of the mouse. *Nat. Neurosci.*, 5(2): 124-133.
- 483.** Zuñiga J; M. Tur; S. Milocco y R. Piñeiro. 2001. *Ciencia y tecnología en protección y experimentación animal*. México: McGraw-Hill Interamericana; p. 682.