

# **TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO POST – MORTEM: NECROPSIA Y TOMA DE MUESTRAS**

**Dra. Ursula Höfle, Aquila foundation y Centro de Estudios de Rapaces Ibéricas, 45671 Sevilleja de la Jara, e-mail: [Uholfeh@nexo.es/aquilafoundation@hotmail.com](mailto:Uholfeh@nexo.es/aquilafoundation@hotmail.com)**

## **CONTENIDO:**

- 1- INTRODUCCIÓN**
- 2- PROTOCOLO Y ANAMNESIS**
- 3- MATERIAL Y CONSIDERACIONES PREVIAS**
- 4- MEDIDAS DE INTERÉS**
- 5- TÉCNICAS BASICAS DE NECROPSIA**
- 6- EXAMEN DE SISTEMAS Y ÓRGANOS**
- 7- TOMA DE MUESTRAS**
- 8- ENVIO DE MUESTRAS**
- 9- NECROPSIA DE HUEVOS**
- 10- BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA**

# 1- INTRODUCCIÓN

En el diagnóstico post mortem hay que distinguir principalmente dos aproximaciones diferentes. En la primera se trata de realizar necropsias de **animales individuales** fallecidas con el fin de la determinación de la causa de su muerte o del problema que sufrían.

En el segundo caso se trata de necropsias diagnósticas de **varios individuos** con el fin de averiguar la etiología de una problemática determinada en una población, bien del medio natural, bien de una granja. En este último es recomendable la abatida diagnóstica, es decir la selección, además de los especímenes ya fallecidos, de varios individuos vivos representativos de una población/producción y del problema que experimenta, para su eutanasia o caza y posterior necropsia.

Para la obtención de la máxima información del examen pos mortem de un animal es fundamental seguir un proceso riguroso rutinario, que permite la visualización de todos los sistemas. De este modo se asegura la descripción de todas las lesiones posibles, ya que la omisión de alguno o varios sistemas puede llevar a la imposibilidad de diagnosticar un problema por falta de material adecuado para los análisis pertinentes, o incluso llevar a un diagnóstico equivocado. Por estas razones el contar con un especialista para la necropsia conlleva una gran ventaja.

## 2- PROTOCOLO Y ANAMNESIS

Es importante protocolar toda la información que se obtiene antes, durante, y después de realizar una necropsia, así como el número y tipo de muestras obtenidas para análisis posteriores. Con el fin de optimar las posibilidades de comparar los resultados obtenidos, y hacer un seguimiento contundente de las muestras, y los análisis realizados, es conveniente utilizar de forma rutinaria una ficha de necropsias completa y unificada.

Antes de realizar una necropsia de un ave fallecido es importante considerar y apuntar toda la información disponible, dado que puede facilitar el diagnóstico. De especial importancia es esta recaudación de información - la anamnesis antes de la efectucción de necropsias "diagnósticas" para una población.

## 3- MATERIAL Y CONSIDERACIONES PREVIAS

### 3.1 Material

Recipiente suficientemente grande (1x tejido/10x formol) con formol tamponado al 10%

Pinzas (con y sin dientes)

Tijeras (grandes, pequeñas)

Mango y hojas de bisturí  
Tenazas para cortar hueso  
Báscula  
Jeringas (2+5ml)  
Hisopos  
Portas  
Cubres  
Metro  
Calibre  
Papel para secar  
Papel/Cartón para extender tejido  
Lápiz, Bolígrafo, Rotulador  
Ficha  
Guantes de látex, si se trata de un mamífero grande guantes “heavy duty”  
Mascarillas  
Alcohol 70%  
Medios especiales  
Tubos vacíos estériles  
Placas petri estériles  
Recipientes con medios especiales

### **3.2 Medios de fijación**

#### **1- Formól tamponado al 10% (cantidades para 1 litro de formól tamponado)**

El medio por excelencia y rutinario para la fijación de tejidos para el diagnóstico histopatológico, para microscopia electrónica se necesita una postfijación)

Formol concentrado (40%).....0,1 l  
Agua destilada.....0,9 l  
Sodio fosfato dibásico.....6,5 g  
Sodio fosfato monobásico.....4,0 g

#### **2- Alcohol (Etanol) al 70%**

(Medio para parásitos, también alcohol glicerina)

#### **3- Etanol (frío) al 100%**

(Para fijar tejidos para extracción de ADN, por ejemplo para estudios genéticos)

#### **4- Alcohol glicerina**

Alcohol (Etanol) al 70%.....0,9 l  
Glicerina.....0,1 l

#### **4- Glutaraldehído**

Glutaraldehido concentrado (25%)....0,1 l  
PBS.....0,9 l

(Para microscopía electrónica, trozos muy pequeños (1mm<sup>3</sup>), a los 2 horas lavar con PBS y dejar en PBS).

Todos los ingredientes mencionados son adquiribles a través de la farmacia. Sin embargo hay que observar un **especial cuidado al manejar el formol ya que es muy irritante para las mucosas al inhalar, puede producir alergias de contacto si llegar al contactar con la piel, y por último es muy cancerígeno. Hay que procurar manejarlo siempre con guantes, y en habitaciones muy bien ventiladas.**

### **3.3 Consideraciones previas**

#### **a) Higiénicas**

El lugar donde se efectúa la necropsia no debe ser sujeto a tránsito de personas o material que luego pase al resto del centro de recuperación. Lo ideal sería un local con un acceso apartado del resto del movimiento diario del personal del centro de recuperación.

En la entrada de dicho local es necesario colocar un medio de desinfección para el calzado (bandeja con desinfectante o esponja), con el fin de evitar la distribución de patógenos por el resto del centro. Un local idóneo para efectuar necropsias debe de estar cerrado, con las paredes alicatadas o cubierta de pintura plástica (de mataderos), disponer de una buena fuente de luz, y tener tela mosquetera en las ventanas y la puerta (Contrapuerta).

En el defecto de un local con las particularidades mencionadas, necropsias de aves pequeñas se pueden realizar en una bandeja (con papel absorbente) que posteriormente se desinfecta.

Después de cada necropsia es importante limpiar y desinfectar siempre todos los instrumentos (separar la hoja del mango de bisturí!!), guardar el cadáver y los restos de órganos en doble bolsa y desechar de la forma más adecuada. Limpiar la mesa y el suelo con desinfectante (Instrumet (®) superficies) después de cada necropsia efectuada.

Es de gran importancia observar siempre una higiene rigurosa, dado que estamos tratando con material que (aunque en el momento de manejarlo lo desconocemos) puede presentar un riesgo infectocontagioso para el resto de los animales presentes en el centro o para las personas que lo manejen.

En casos de animales con sospecha de:

- Clamidiosis
- Tuberculosis
- Tularemia
- Brucelosis
- Micoplasmosis
- Toxoplasmosis
- Cryptococosis
- Salmonellosis
- Infección por Campylobacter
- etc.

trabajar con mascarilla (y gafas) y especial cuidado.

## **b) Técnicas**

En aves o mamíferos pequeños: congelar el cadáver si la necropsia no puede efectuarse en las 48 horas después de la muerte. Para mayor comodidad fijar cadáveres de animales muy pequeños (murciélagos, pequeños roedores, pollos recién nacidos, paseriformes, por ejemplo gorriones) con agujas en un cartón grande o corcho blanco antes de empezar.

Según la sospecha de un proceso determinado, que se puede tener ante una mortalidad o morbilidad entre las aves, es conveniente contactar antes con el laboratorio que va a hacer los análisis para el diagnóstico final, para acordar con ellos el tipo de muestras necesarias y la forma de su preservación.

Es recomendable el uso rutinario de un formulario/una ficha de necropsia, para dejar constancia de los sistemas examinados, las lesiones observadas, y las muestras obtenidas y su posterior procesamiento.

## **c) Legales**

Algunas de las enfermedades que se pueden sufrir las especies amenazadas o que se manejan en los centros de recuperación son de declaración obligatoria, debido a que pueden presentar un riesgo para la población humana o para las explotaciones ganaderas. Ante la sospecha de alguna de estas enfermedades siempre contactar con el veterinario oficial responsable de vuestra área, antes de empezar la necropsia o en el momento de encontrar indicios de que se pueda tratar de una de estas enfermedades.

Enfermedades de declaración obligatoria que pueden encontrarse en fauna silvestres amenazada incluyen:

- Enfermedad de Newcastle
- Anthrax
- Ornitosis
- Peste aviar (Influenza)
- Rabia
- Enfermedad de Aujeszky
- Tularemia

## **4- MEDIDAS DE INTERÉS**

La morfometría, aunque no es una parte indispensable de una necropsia, puede dar nos información clave sobre el estado de desarrollo del animal en cuestión en relación con lo considerado normal para la especie. Adicionalmente tratamos con frecuencia con especies amenazadas de las que muchas veces solo existen valores de referencia de valores biológicos, haciendo que cualquier dato obtenido de un ejemplar fallecido tenga un valor indudable.

La relación entre tamaño de los huesos largos, y el peso en aves o la longitud del cuerpo y el peso permite además en aves o mamíferos adultos incluir un dato objetivo en nuestra valoración del estado de nutrición. Del mismo modo, pueden resultar de utilidad los pesos de órganos como el corazón, el hígado o el bazo.

## **A) Aves**

### Externo

\*Peso

\*Longitud máxima ventral del ala (Del carpo hasta la punta de la remige mas larga por la cara ventral o interior del ala, presionando el ala sobre el metro), solo en aves con el plumaje en perfecto estado.

\*Longitud del tarsometatarso (de la articulación con las falanges (dorso de la mano), hasta la articulación con el tibiotarso (caudal pierna))

\*Longitud del antebrazo (desde el codo hasta el carpo)

\*Longitud del esternón

### Interno

\*Peso de corazón (sin coágulos y pericardio), hígado (sin vesícula biliar), y bazo.

## **B) MAMÍFEROS**

### Externo

\* Peso

- Longitud del cuerpo hasta la inserción de la cola (hasta primera vértebra de la cola)
- Longitud de la cola
- Longitud del tarso
- Perímetro torácico
- Longitud de la oreja (en el interior, punta hasta inserción, sobre todo lagomorfos)
- si procede: longitud y ancho de los colmillos en su base
- Dentadura: En muchos mamíferos la edad en animales jóvenes puede determinarse mediante la dentadura, según las formulas conocidas de erupción y cambio de dientes

### Interno

Peso del corazón

Peso de cada riñón con y sin su grasa de alrededor (permite determinar el “Kidney Fat Index” que puede dar mucha información sobre la condición física)

Peso del bazo

## **5- TÉCNICAS BASICAS DE NECROPSIA**

Sólo un método rutinario riguroso de necropsia garantiza la obtención de la máxima cantidad de información presente en cada cadáver y con esto un correcto diagnóstico. Las técnicas aquí detalladas son las que nosotros utilizamos, pero se citan con un fin meramente informativo. Cualquier técnica que permite visualizar con detalle todos los

sistemas, y al mismo tiempo reducir la contaminación cruzada al mínimo asegurando que no se olvida ningún órgano o sistema es válida.

## 5.1 Glosario

Dorsal:	Hacia la espalda
Ventral:	Hacia el vientre
Caudal:	Hacia atrás (la cola)
Craneal:	Hacia delante (cabeza)
Lateral:	Hacia un lado

## 5.2 AVES

### 5.2.1 Examen externo

- 1- Inspeccionar el plumaje, los anejos, y los orificios externos, efectuar las medidas pertinentes.
- 2- Evaluar el estado de nutrición (ángulo pectoral) y musculación del ave.
- 3- Mojar las plumas del abdomen, pecho y cuello del ave con desinfectante para evitar la volatilización de polvo de plumas y patógenos potenciales.
- 4- Desplumar dichas zonas.

### 5.2.2 Necropsia y examen interno

Según la sospecha conviene en algunos casos invertir el orden, y tras abrir la cavidad celomica tomar directamente muestras para cultivo del interior del corazón y de algunos órganos antes de proceder a la necropsia completa.

- 5- Abrir el pico y cortar la mandíbula en su comisura izquierda. Cortar la piel en el lado izquierdo del cuello, luego siguiendo la cresta del esternón y la mediana hasta la cloaca.
- 6- Abrir la piel y preparar lateralmente. Evaluar la presencia de grasa, y el aspecto de grasa, tejido subcutáneo y musculatura.
- 7- Si lo permite el tamaño del ave: Desarticular ambas caderas. (para mejor posición del cadáver y mayor comodidad en la necropsia)
- 8- Cortar los músculos pectorales a ambos lados de la apertura del pecho, cortar ambas clavículas y coracoides.
- 9- Cortar las costillas de un lado y levantar primero el “caparazón” del esternón y los músculos pectorales desde un lateral costillar, para inspeccionar los sacos aéreos torácicos craneales y caudales.
- 10- Cortar las costillas del lado opuesto, levantar el esternón y retirar hacia atrás quitando también la pared abdominal.
- 11- Inspeccionar los órganos y las serosas visibles antes de empezar la extracción.
- 12- Cortar el tronco vascular del corazón, y quitar el mismo junto con el pericardio.  
En caso de sospecha de septicemia, y en un cadáver reciente (<12 horas muerto),

remitir el corazón sin abrir; o tras abrirlo con una tijera estéril tomar una muestra del interior y remitir este hisopo en medio de transporte a un laboratorio de microbiología. En ausencia de sospechas, abrir el pericardio, y retirar, luego abrir el corazón con un corte transversal desde la punta (en especies pequeñas, en especies más grandes abrir según el flujo de la sangre).



- 13- Si procede, localizar las tiroides, y paratiroides examinar su tamaño y apariencia y extraerlas.
- 14- En pollos y animales jóvenes examinar el cuello por la presencia del timo, y en su caso extraerlo.
- 15- Examinar el tejido nervioso localizado a ambos lados de la entrada del tórax (plexo braquial).
- 16- Examinar el saco aéreo abdominal, si no se encuentra liso, brillante y transparente tomar una muestra. Si no se observan alteraciones romper este saco aéreo a ambos lados del paquete intestinal.
- 17- Cortar el esófago a la altura de la bifurcación tráqueal, y extraer proventriculo, ventrículo, hígado, bazo y paquete intestinal, incluida la cloaca y en su caso el oviducto, juntos.
- 18- En aves jóvenes separar la bolsa de Fabricius que se encuentra en la cara dorsal de la cloaca.
- 19- Cortar la mucosa bucal y los huesos hioides y preparar tráquea y esófago hacia caudal hasta extraerlo con el pulmón.
- 20- Extraer los riñones con las gónadas y adrenales. En muchas especies los riñones están muy encasilladas en el sacro, es importante intentar extraer al máximo todas las partes de ambos riñones.
- 21- Examinar cada órgano por separado, y tomar las muestras y medidas correspondientes.
- 22- Separar las asas de intestino, examinar el páncreas y abrir el intestino en toda su longitud, o al menos un trozo de cada parte. Si hay lesiones, enrojecimiento o sospecha de un proceso infeccioso, cerrar trozos de varias regiones (intestino delgado e intestino grueso) anudando hilos en ambos lados, cortar los y remitirlos en un contenedor estéril a un laboratorio de microbiología.
- 23- Separar el músculo Iliofibularis y Flexor cruris medialis de una pata para acceder al nervio ciático.
- 24- Abrir la articulación de fémur y tarsotibiotarso en una pata, y preparar los músculos para liberar el tarsotibiotarso. Romper el hueso y coger las muestras de medula necesarias.
- 25- Separar la piel del cráneo, cortar el hueso detrás de las órbitas, la base de la cera y la base del cráneo y extraer el encéfalo.
- 26- Abrir los senos paranasales, cortar el pico delante de las narinas para examinar las conchas nasales.
- 27- Extraer los ojos en caso de ser necesario.
- 28- Abrir las articulaciones de los hombros del tarsometatarso y de las falanges.

En el caso de que el cadáver o el esqueleto sean requeridos para su preparación para algún museo la técnica de necropsia ha de variarse de la siguiente manera:

- 1- Inspeccionar el plumaje y los orificios externos, efectuar las medidas pertinente

- 2- Mojar las plumas con desinfectante.
- 3- Efectuar un corte de la base del pico hasta la cloaca.
- 4- Abrir la piel y preparar lateralmente.
- 5- Cortar los músculos pectorales siguiendo la quilla del esternón a ambos lados y preparar lateralmente.
- 6- Desarticular ambos huesos coracoides y la clavícula del esternón. Exarticular las costillas de ambos lados en la base del esternón.
- 7- Levantar el esternón y separar el pericardio, efectuar un corte central en la pared abdominal y preparar hacia ambos lados.
- 8- Inspeccionar los órganos y las serosas visibles antes de empezar la extracción.
- 9- Etc....

## 5.3 MAMÍFEROS

### 5.3.1 Examen externo

- 6- Inspeccionar el pelaje, las plantas y uñas, pezuñas o cascos, y los orificios externos, efectuar las medidas pertinentes.
- 7- Identificar, cuantificar y/o recoger parásitos externos.
- 8- Evaluar el estado de nutrición (sujetivo y/o mediante body condition score = dando un valor a la cantidad de tejido blando presente sobre determinados puntos oseos (cadera, etc.) índice procedente de la ganadería vacuna).
- 9- Según la especie tumbar el animal sobre la espalda o un lateral (en rumiantes derecha!).
- 10- Determinar sexo y edad (formula dentaria).

### 5.3.2 Examen interno

Según la sospecha conviene en algunos casos invertir el orden, y tras abrir la cavidad toracal o abdominal tomar directamente muestras para cultivo del interior del corazón y de algunos órganos antes de proceder a la necropsia completa.

- 1- Efectuar un corte longitudinal a través de la piel, a lo largo de la mediana ventral del cuerpo desde la boca hasta el ano. Preparar la piel lateralmente y en la zona de la ingle cortar la piel perpendicularmente para poder retirarla.
- 2- Sobre todo en animales grandes: Separar la escápula izquierda del cuerpo y dejar la pierna doblada lateralmente sobre ella. Cortar la musculatura de la cara interna de ambos muslos para tumbar las piernas lateralmente.
- 3- Abrir la cavidad abdominal con un bisturi cortando encima de una pinza para evitar daños al tracto digestivo.
- 4- Preparar la pared abdominal en un lateral a lo largo de la última costilla. Presencia de líquido, sangre u otro en la cavidad?
- 5- Abrir el costillar de un lado a lo largo de la columna vertebral y el esternón.
- 6- Inspeccionar los órganos en situ. Presencia de líquido o sangre en la cavidad?
- 7- Efectuar cortes ventrales en la cabeza a lo largo de la mandíbula para poder extraer la lengua y la faringe.
- 8- Retraer y separar esófago y traquea, corazón y pulmones hasta el diafragma. Si presente separar antes algo de tímo.

- 9- Efectuar una doble ligatura en el esófago y cortarlo. Extraer pulmones con corazón etc.
- 10- Extraer el bazo, y el resto del tracto digestivo cortando a siguiendo de la aorta.
- 11- Extraer ambos riñones y las glándulas adrenales.
- 12- En la cabeza: Examinar los ganglios linfáticos (mandibular y retrofaringeos laterales y mediales, parotideo) y tomar muestras (si procede).
- 13- En cuanto a las vísceras es preferible trabajar por apartados, de lo mas limpio a lo mas contaminado, es decir por último el tracto digestivo y empezando por el los sistemas respiratorio y cardiovascular.
- 14- Localizar los ganglios mediastinales craneales medianos y caudales y el ganglio traqueobronchial. Separar filetear y tomar las muestras que proceden.
- 15- Si procede localizar las tiroides y paratiroides y separar y guardar.
- 16- Examinar el pericardio y separar el corazón en la base de los grandes vasos. Quitar el pericardio y abrir el corazón siguiendo el flujo sanguíneo empezando por la vena cava o la Aorta a lo largo del septo.
- 17- Retirar los coágulos, inspeccionar las válvulas (atrioventriculares y lunares) y pesar el corazón sin pericardio y coágulos.
- 18- Examinar el pulmón y abrir siguiendo los bronquios (detección de parásitos, sobre todo en unguilados). Guardar al menos material de tres localizaciones.
- 19- Inspeccionar las tonsilas y abrir la tráquea desde la faringe.
20. Abrir el esófago.
21. Separar el bazo, examinar y pesar y tomar muestras.
22. Localizar ambas glándulas adrenales, pesar y guardarlas.
23. En cada riñón separar la cápsula (se desprende bien?) con su grasa y pesar el riñón con y sin la grasa.
24. Abrirlo longitudinalmente e inspeccionar el cortex, la medula y la pelvis del órgano.
25. Separar el hígado, localizar el ganglio hepático y filetear, examinar y cortar el hígado, y examinar la vesícula biliar. Antes de su separación del duodeno conviene el probar la funcionalidad del ducto coledochus (del bilis)
26. Examinar el páncreas.
27. Localizar los ganglios mesentéricos examinar y tomar muestras.
28. Si procede localizar la válvula ileocaecal (lagomorfos, unguilados) y sus ganglios adyacentes y separar.
29. Examinar el sistema reproductivo (ovarios, utero). Examinar la vejiga urinaria (en carnívoros con sospecha de moquillo fijar cuello en formol).
30. Extraer heces del recto para un coprológico, y abrir al menos una parte de cada apartado del tracto digestivo.
31. Localizar los ganglios escapulares, popliteos, inguinales, examinar y tomar muestras.
32. Abrir al menos dos articulaciones.
33. Si procede, abrir el cráneo con un corte tangencial a la parte caudal de la cabeza y extraer el cerebro.

## **6- EXAMEN DE SISTEMAS Y ÓRGANOS**

### **6.1 Estado físico y de musculación**

- Relación tamaño/peso del animal (biometría).

- Presencia, cantidad y aspecto (en algunas especies naranja de forma fisiológica, diferencia entre neonatos y adultos etc.) de grasa subcutánea e intraabdominal.
- En mamíferos: presencia y cantidad de grasa perirenal.
- Presencia de grasa coronaria (corazón).
- Desarrollo y consistencia de la musculatura (En aves: pectoral y extremidades inferiores).

## **6.2 Sistema esquelético y musculatura**

- Palpación de huesos largos, cráneo y columna vertebral
- Examinar piel y tejido subcutáneo: Presencia de hematomas, perforaciones etc.
- Examinar desarrollo, aspecto, consistencia y lesiones de la musculatura (En aves: Pectoral superficial y profundo, musculatura de las extremidades, En mamíferos: gluteos, semitendinosus y semimembranosus)
- Examinar la bursa esternalis en aves en las que existe
- Examinar las articulaciones: Cantidad de synovia, aspecto del cartílago (y hueso)

## **6.3 Cavidades**

- Presencia de líquidos o masas (describir y tomar muestras. En líquidos determinar densidad y proteínas totales.

## **6.4 Órganos en general:**

- Tamaño (Peso, experiencia para la especie, bordes).
- Forma (Bordes, etc.).
- Superficie (Serosa): Lisa, brillante, y transparente o depósitos, adherencias, fibrina?
- Color.
- Consistencia.
- Al corte:
  - Salida de líquido
  - Color
  - Consistencia.

## **6.5 Sistema cardiovascular**

- Pericardio: a) Superficie: (Lisa, transparente, brillante, fina) Presencia de adherencias, depósitos, engrosamiento.  
b) Contenido: Cantidad, consistencia, color (obtener en tubo estéril).
- Corazón: Tamaño, desarrollo ventrículos, color musculatura, válvulas, endocardio, contenido: coagulado o no? Adherencia del coágulo?
- Vasos sanguíneos.

## **6.6 Sistema respiratorio**

- Narinas: Taponados/libres, secos/destilación (tipo, color, cantidad).

- Conchas nasales: Forma, color, superficies, oclusiones, presencia de parásitos (oestrildos).
- Senos paranasales: Contenido.
- Coanas: Bordes, destilación, oclusión.
- Tráquea: Color y aspecto superficie interior, contenido, parásitos.
- Pulmón: Retracción, color, consistencia, líquido al corte, presencia de parásitos en los bronquios.
- Sacos aéreos (Aves): Superficie (Liso, transparente, brillante, húmedo), grosor, contenido.

### 6.7 Sistema digestivo

- Orofaringe: Superficie de la mucosa (lisa, húmeda, brillante, color rosado) - aspecto y color.
- Glándulas salivares: Tamaño, aspecto, contenido.
- Esófago, buche (aves): Superficie de la mucosa, contenido, parásitos, tamaño del buche.
- Proventrículo (Aves): Tamaño, Serosa (cara externa), Mucosa (grosor, aspecto, color), contenido.
- Ventrículo (Aves): Tamaño, serosa, musculatura, contenido (chinas, etc.), capa queratinizada (separación?), mucosa.
- Estómago(s) (Mamíferos): Contenido, estado de la mucosa en las diferentes zonas y/o estomagos, presencia de parásitos.
- Intestino: Desviaciones, serosa, mucosa, contenido, parásitos (macroscópico)
  - Aves: Realizar raspados con cubreobjetos - de cuatro localizaciones:
 

<ol style="list-style-type: none"> <li>1.</li> <li>2.</li> <li>3.</li> </ol>	}	tercio de intestino delgado	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="border: 1px solid black; width: 30px; height: 30px;"></div> <div style="border: 1px solid black; width: 30px; height: 30px;"></div> <div style="border: 1px solid black; width: 30px; height: 30px;"></div> <div style="border: 1px solid black; width: 30px; height: 30px;"></div> </div>
4. Ciegos (si presentes)			
  - mezclar con una gota de suero salino y examinar al microscopio (x10, x20, x40 aumentos) para detectar coccidios y huevos de endoparásitos.
- Hígado: Presencia/ausencia de vésicula biliar, tamaño y contenido de la misma. Tamaño (peso), superficie (serosa), forma, color, consistencia; destilación de líquido, superficie (plana, concava, convexa), color, consistencia al corte.
- Páncreas: Presencia, tamaño, superficie, color, consistencia, corte.

### 6.8 Sistema de hemopoiesis e inmune

- Bazo: Tamaño (peso), número (bazos adicionales), superficie (serosa y parenchyma), color, consistencia, corte.
- Medula ósea: Color, consistencia.
- Bolsa de fabricio (Aves): Presencia, tamaño, superficie mucosa (aspecto, color)
- Timo: Presencia, cantidad, color, consistencia.

### 6.9 Sistema urogenital

- Riñones: Tamaño, color, consistencia, corte. Mamíferos (Carnívoros, suidos, etc.) separación de la capsula sin defectos?
- Ureteres: Diámetro, contenido.
- Gonadas: Sexo, tamaño, color, grado de desarrollo.
- Oviducto: Tamaño (grado de desarrollo), serosa, adherencias, mucosa (aspecto, color, contenido) y Conductos deferentes.

#### **6.10 Sistema endocrinológico**

- Tiroides
- Paratiroides
- Glándulas adrenales: Tamaño, color.

#### **6.11 Sistema nervioso**

- Encéfalo: Aspecto de las meninges, aspecto de cerebro, cerebelo etc.
- Medula espinal: Integridad, aspecto (en su caso).
- Nervios periféricos: Diámetro, estriación, color (sobre todo aves con vista a la enfermedad de Marek).

## **7- TOMA DE MUESTRAS**

### **7.1 Muestras a guardar**

Los análisis complementarios cuyos resultados en combinación con los resultados de la necropsia y los datos disponibles ayudan a obtener un diagnóstico final incluyen: Histopatología, parasitología, microbiología, virología, toxicología, pero también el examen ultraestructural (pox) o técnicas moleculares (micobacterias).

Es recomendable guardar en todas las necropsias una serie de muestras de forma rutinaria, aunque no sean necesarios de inmediato para el diagnóstico del problema sospechado. Del mismo modo es recomendable guardar más cantidad de la imprescindible de cada muestra que se vaya a analizar y de guardar algo de material además del que se manda al laboratorio, para tener material para eventuales análisis adicionales o diferentes que puedan resultar necesarios.

En lo siguiente listamos las muestras que recomendamos tomar y guardar de forma rutinaria durante cualquier necropsia.

**A- Muestras en formol tamponado al 10%, (análisis microscópicos (histopatología) y de ultraestructura (microscopia electrónica, después de post-fijación en glutaraldehído))**

- Timo y Bolsa de fabricio (Aves) si están presentes

- Ganglios linfáticos, mínimo mandibular, traqueobronquial, hepático y mesentérico (mamíferos).
  - Válvula ileocaecal
  - Tráquea y tres trozos de pulmón (ápice, parte craneal y un trozo intermedio)
  - saco aéreo (Aves)
  - Esófago
  - Proventriculo
  - Ventrículo o estomago (s)
  - Intestino (Duodeno, Jejuno,
  - Ciegos e int.grueso)
  - Hígado
  - Gónadas y oviducto
  - Riñón (trozos de parte craneal y caudal)
  - Bazo
  - Plexo brachial
  - Nervio ciático (Aves)
  - Encéfalo
  - Músculo pectoral (Aves)/ Semitendinosus (mamíferos)
  - Medula ósea
  - Corazón entero o parte representativa de ventrículos, atria, septum y válvulas
  - Muestras de cualquier lesión observada
- (previamente extender sobre cartón y dejar secar un poquito)

Parásitos internos y externos se fijan con alcohol al 70%. Después de un momento de fijación se transfieren a un tubo de vidrio con alcohol glicerina. Muestras de órganos en aves con gota visceral, se guardan además de en formol en alcohol al 100%.

**B- Congelado en tubos de vidrio (5ml) estériles (sin aditivo de tapón marrón), para cultivos de microbiología o virus, y/o envuelto en papel de aluminio para toxicología. (En caso de sospecha de enfermedad infecciosa)**

**a) Para cultivos (en tubos estériles):**

- Hígado
- Pulmón
- Bazo
- Ganglios linfáticos, válvula ileocaecal, bolsa de fabricio, timo
- Riñón
- Intestino
- Encéfalo
- Hueso con medula (tibiotarso)

**b) Para toxicología (solo en caso de sospecha)**

En casos de sospecha de una muerte por **sustancias tóxicas** el cadáver encontrado ha de ser levantado en conjunto con los agentes del cuerpo del SEPRONA de la guardia civil, cuyos agentes levantan un acta relacionado con el caso. En general el cadáver es remitido a un laboratorio especializado. Las muestras mencionadas en lo siguiente han

de tomarse por triplicado. Dos de ellas quedaran congeladas en custodia, mientras que el tercero se utiliza para los análisis toxicológicos pertinentes.

- Hígado
  - Esófago y buche
  - Proventrículo
  - Ventrículo
- } con contenido

En casos de sospecha de **mycotoxicosis** conviene remitir a un laboratorio especializado muestras que incluyen los arriba mencionados además del pulmón o el cadáver entero.

En el caso del **botulismo**, un diagnóstico fehaciente, que pasa por la demostración de la toxina botulínica en estos momentos en España solo puede realizarse a partir de suero sanguíneo de un animal moribundo, o muy afectado.

### c) Muestras para parasitología

Para el examen parasitológico son mejor las muestras no congeladas, sin embargo en caso de no ser posible un rápido análisis puede resultar necesario la congelación o la fijación en formol de las muestras (concertar con el laboratorio).

Las muestras a remitir para el análisis parasitológico incluye además de cualquier parásito adulto encontrado (en alcohol al 70%):

- Hígado con vesícula biliar
- Tramos de diferentes partes del intestino incluido los ciegos con contenido
- En ocasiones también tramos del tracto digestivo superior o del sistema respiratorio o cardiovascular.

## 8- ENVIO DE MUESTRAS

Para la calidad de los análisis y con ello de los resultados es decisiva la rapidez con la que una muestra o un cadáver llega al laboratorio en cuestión. Del mismo modo es de gran importancia el estado del material.

Conviene contactar el laboratorio antes del envío del material para en su caso fijar las prioridades y tratar la muestra de diferente manera (Muestras sin congelar son más útiles para parasitología e histopatología mientras la congelación favorece resultados válidos en microbiología).

### 8.1 Envío de muestras

#### a) Muestras fijadas en formol

El envío de muestras ya fijadas no tiene requerimiento de rapidez y puede realizarse por correo habitual. Sin embargo es de gran importancia cerciorarse de que el envío no vaya producir fugas de formol, ya que este líquido es muy irritante, puede producir reacciones alérgicas de contacto en la piel e irritaciones de las mucosas tras su inhalación.

Por estas razones es importante disponer de recipientes de cierre hermético, de plástico (vidrio se rompe con frecuencia durante el envío), debidamente marcados con rotulador identificando con claridad su contenido. Estos mismo se envuelven en material absorbente (papel de periódico) y se introducen en una bolsa de plástico, y después en una caja. El envío debe estar acompañado de un informe conteniendo mínimo los siguientes datos:

- Nombre y dirección del remitente y nombre de la persona que realizó la necropsia
- Petición de análisis
- Tipo de material (órganos, tejidos,...)
- Fecha de muerte y de la necropsia
- Lesiones observadas durante la necropsia: Descripción, localización, cantidad
- Casos anteriores similares

#### **b) Muestras para cultivo**

Muestras para cultivo pueden consistir en hisopos en medio de transporte obtenidos durante la necropsia, o muestras de órganos o tejidos en contenedores estériles, bien frescos bien congelados.

Es importante realizar su envío con la mayor brevedad posible y en refrigeración (acumuladores de frío) siguiendo las mismas condiciones mencionadas con anterioridad. Hisopos en medio de transporte han de mantenerse en refrigeración hasta su envío, hisopos que no tienen medio transporte se sumergen idealmente en una reducida cantidad de suero salina para prevenir el secado.

Muestras de tejido que no pueden ser enviados en el mismo día de la necropsia han de congelarse y enviarse en este estado. El informe que acompaña al envío debe contener al igual que para las muestras anteriores los siguientes datos:

- Nombre y dirección del remitente y nombre de la persona que realizó la necropsia
- Petición de análisis
- Tipo de material (órganos, tejidos,...)
- Fecha de muerte y de la necropsia
- Lesiones observadas durante la necropsia: Descripción, localización, cantidad
- Casos anteriores similares

Para cultivos virológicos o de Clamidiofila las muestras han de enviarse de la misma manera o según lo acordado con el laboratorio en cuestión.

#### **c) Muestras para análisis toxicológicos**

Estas muestras han de remitirse siempre congelados envueltos en papel de aluminio en contenedores cerrados herméticamente.

El informe acompañante debe contener además de los datos mencionados en a) y b) el grupo de tóxicos del que se sospecha.

## **9- NECROPSIA DE HUEVOS**

### **9.1 Introducción**

La necropsia de huevos fallecidos durante la incubación es una fuente muy valiosa de información, tanto sobre el manejo de la incubadora y de los huevos como sobre posibles problemas de nuestros reproductores en el caso de proyectos de cría en cautividad. De la misma manera puestas o huevos abandonados encontrados en el campo pueden darnos información valiosa sobre los problemas que puede sufrir una población.

La necropsia del huevo sirve para detectar:

- Problemas de infertilidad
- Causas de muerte embrionaria
- Fallos en la incubación artificial
- Enfermedades infecciosas de los reproductores
- Posibles efectos tóxicos

Sin embargo requiere una experiencia avanzada, y conocimientos detallados sobre el desarrollo normal de un embrión, la formación y estructura de un huevo, sus membranas y la cáscara, al igual que sobre los posibles procesos patógenos. Por estas razones recomendamos la realización de estos análisis por un especialista.

### **9.2 Anamnesis**

Al igual que para la necropsia de un cadáver es de gran utilidad contar con la máxima información posible a la hora de realizar la necropsia. Es importante anotar la siguiente información:

- Historial de los padres
- Historial de incubación
- Cantidad de huevos afectados
- Climatología
- Observaciones sobre los adultos
- Cantidad de nidos afectados
- Mortandad/Mortalidad entre adultos asociada

### **9.3 Material (ver también 3)**

- Ovoscopio
- Báscula, calibre
- Ficha, lápiz, bolígrafo
- Alcohol al 70%, formol al 10%
- Mechero de alcohol
- Instrumentos: Aguja con punta trocar, tijera no afilada, pinzas, bisturí etc
- Recipientes estériles

## 9.4 Examen externo

Para el examen exterior del huevo es de gran utilidad contar con un ovoscopio para detectar por ejemplo desperfectos minúsculos, la localización y el tamaño de la cámara de aire.

Las medidas a tomar son de gran importancia si la problemática esta relacionada con la estructura de la cáscara.

Las medidas a tomar (en su caso) incluyen:

- Longitud
- Ancho
- Peso del huevo entero
- Después de la necropsia: Peso de la cáscara seca

Además el examen externo debería incluir los siguientes aspectos

- **Dibujo:**
  - Color & dibujo
  - Suciedades
  - Depósitos calcio
- **Ovoscopio:**
  - Desperfectos
  - Tamaño y localización de la cámara de aire
  - Diagnóstico preliminar del posible contenido
  - Diagnóstico preliminar: fértil/ infertil
- **Picadura del embrión**
  - Localización
  - Dirección de giro

## 9.5 Examen interno

Un huevo recién fallecido sin problemas infecciosos debería estar estéril en su interior. Por esta razón y para poder distinguir los potenciales contaminantes de patógenos es imprescindible de realizar la necropsia en absoluta esterilidad hasta que se hayan obtenido los cultivos pertinentes.

Esto significa:

- La limpieza y el flamear la superficie del huevo antes de abrirlo.
- Utilizar instrumentos estériles y flamear entre cada paso.

La técnica de necropsia tiene por fundamento el respetar al máximo las membranas para garantizar su análisis, y el realizar cultivos durante el análisis.

- 1- Abrir con tijera no afilada el polo romo del huevo (sobre la cámara de aire) NB: En ocasiones puede ser necesario una apertura lateral con el fin de determinar una malposición.
- 2- Examinar las membranas testáceas y luego retirarlas.
- 3- Examinar y anotar el color, tamaño y localización de albumen, yema, y alantoide.
- 4- Evaluar la membrana corioalantoide (CAM).
- 5- Observar la presencia y el tramo de los vasos sanguíneos, si presente describir el olor.
- 6- Con un hisopo estéril tomar cultivos del albumen y amnio
- 7- Agrandar el agujero rompiendo los bordes de la cáscara con pinzas.
- 8- En un huevo infértil o con un embrión pequeño: Verter el contenido en un recipiente estéril.
- 9- Cultivar la yema (es importante cultivar yema y albumen por separado).
- 10- Pesar, medir y clasificar (edad) el embrión.
- 11- Embrión minúsculo: Fijar entero (o parcialmente) en formol tamponado al 10%
- 12- Embrión pequeño:

- Abrir en la mediana del abdomen, evitando ombligo, y saco vitelino
- Cultivar la cavidad tóraco-abdominal, y/o hígado y otros órganos
- Fijar entero o parcialmente en formol al 10%

13- Embrión grande:

- Describir:
  - Localización de la cámara de aire en relación con el huevo
  - Posición del embrión en el huevo
  - Posición de miembros, cabeza, cuello y pico en relación con el cuerpo
  - Posición del pico en relación con la cámara de aire
- Después realizar necropsia completa (Cultivos, lesiones, fijar tejidos)

## **9.6 Examen del embrión y sus anejos**

### **9.6.1 Edad del embrión**

Es importante poder determinar con cierta exactitud el día de fallecimiento del embrión durante la incubación, ya que la muerte en determinados estadios está relacionado con potenciales causas distintas.

### **Muerte en estadios iniciales**

- Puede resultar difícil de discernir entre infertilidad y ausencia de desarrollo

Posibles causas:

- Problemas de nutrición en reproductores
- Incubación o manejo
- Enfermedad reproductores, infección in-ovo
- Problemas genéticos letales

### **Muerte a la mitad del periodo de incubación**

- Infecciones in-ovo
- Temperatura alta o baja
- Problemas nutricionales

### **Muerte al final del periodo de incubación**

- Malposición
- Accidentes con las membranas
- Infecciones in-ovo
- Problemas genéticos letales

### **Pica y muere/pollo débil**

- Problemas de temperatura (incubación)
- Humedad inadecuada en nacedora
- Falta de oxígeno/ ventilación
- Pica vaso sanguíneo o aspira contenido de huevo
- Problemas de nutrición o infección ombligo, vitelo
- Giros inadecuados primeras semanas

## **9.6.2 Malposiciones del embrión**

El embrión se sitúa en la posición correcta para su nacimiento durante el último trimestre de la incubación.

Si no adopta esta posición (Cabeza debajo del ala derecha) no será capaz de picar el la membranas, y la cáscara, y de nacer con normalidad.

Sin embargo la observación de malposiciones solo suele ser significativa, en cuanto a la muerte del embrión si se encuentra en los últimos 24-48 horas antes de nacer el huevo en cuestión.

Las diferentes malposiciones pueden tener causas comunes que frecuentemente están ligadas a fallos de incubación:

- Problemas de giro
- Posición incorrecta en la incubadora
- Falta de oxígeno
- Exceso de CO<sub>2</sub>
- Embrión debilitado
- Desarrollo retrasado

Hasta la fecha solo en galliformes hay informaciones consistentes sobre malposiciones, sus causas y consecuencias. Recientemente algunos investigadores han visto que en psitacidas existen algunas diferencias. Sin embargo el esquema existente para la gallina y la codorniz virginiana parecen de bastante aplicabilidad en las especies de interés cinegético, aunque en un futuro sería de interés contar con más datos en cuanto a por ejemplo especies acuáticas.

### **Las Malposiciones más importantes:**

#### **1- Cabeza entre piernas**

- Es casi siempre letal
- El embrión no giró la cabeza a la derecha en el último tercio de la incubación
- Relacionado con una temperatura demasiado alta de incubación

#### **2- Cabeza en el polo agudo del huevo**

- El embrión se encuentra boca abajo en el huevo
- En especies domesticas significa una baja del 50% de la natalidad
- Relacionado con una mala posición en la incubadora, y temperaturas bajas de incubación

#### **3- Cabeza debajo del ala izquierda**

- Es generalmente mortal
- Influencia de la temperatura, la nutrición de los padres, y la posición del huevo en la incubadora

#### **4- El pico no apunta hacia la cámara de aire**

- Natalidad algo mas baja
- Influencia de la posición del huevo en la incubadora

#### **5- Pies por encima de la cabeza**

- Una malposición siempre mortal
- Causas desconocidas

## **6- Cabeza sobre el ala derecha**

- Natalidad algo reducida en Galliformes
- Puede ser normal en Psitacidas
- Influencia de malnutrición de los reproductores

### **9.6.3 Examen del embrión**

El examen pormenorizado del embrión solo es aconsejable en embriones de suficiente tamaño, es decir ya muy desarrollados. Este examen tiene tres dificultades principales:

- Requiere experiencia y conocimientos básicos sobre el desarrollo embrionario.
- En huevos no recientes presenta un alto grado de autólisis.
- Tiene muy poca respuesta inflamatoria, por lo cual algunas lesiones son diferentes

Es de gran importancia el examen de la musculatura del cuello y su grado de desarrollo. Esta musculatura presenta un edema de forma natural en los embriones. El resto de la necropsia se puede realizar parecido a la de un ave adulto.

## **9.7 Toma de muestras para análisis complementarios**

La toma y el envío de muestras para la realización de análisis complementarios son parecidas a lo mencionado para necropsias de aves adultas, con algunas variaciones específicas.

En resumen:

- Histopatología: Membranas y embrión en formol al 10%
- Toxicología: Congelar in recipientes estériles homogenizado de yema, albumen, membranas y parte del embrión
- Virología: Congelar yema (serología), órganos del embrión
- Microbiología: Hisopos en medio de transporte, en casos especiales órganos del embrión

## **10. BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA**

Calnek, B.W.; Barnes, H. C., Beard, C.W.; Mc Dougald, L.R.; Saif, Y.M. (1997) Diseases of poultry 10<sup>o</sup> edición. Mosby Wolfe, Iowa State University Press, Ames, Iowa 1997.

Harrison, L.R. & Herron, A. (1984) Submission of diagnostic samples to a laboratory. Vet. Clin. North. Am. (Small An. Med.) 14: 165-172.

King, A.S.; Mc Lelland, J. (1984) Birds their structure and function, The Balliere Tindall, 2° edición, 234 pp.

Lowenstine, L.J. (1986) Necropsy procedures. In: Harrison, G.J.; Harrison L.R. (Eds.) Clinical Avian Medicine and Surgery. WB Saunders Company, Philadelphia. Chapter 23. Pp 298-309.

Romanoff, A.L. (1960) The Avian Embryo: Structure an Functional Development. The MacMillan Company, New York.

Woodford, M.H., Keet, D.F., Bengis R.G. (2000) Postmortem procedures for wildlife veterinarians and field biologists. IUCN, VSG, OIE and Care for the Wild International, 55 pp.