

Manual de Necropsias de Lince Ibérico

Documento elaborado por el Grupo Asesor de Aspectos Sanitarios del Lince Ibérico

Tercera edición: junio de 2005

Índice

ÍNDICE.....	1
1. CONSIDERACIONES GENERALES	2
2. PROTOCOLO DE NECROPSIA.....	2
2.1 HISTORIAL CLÍNICO	2
2.2 EXAMEN EXTERIOR DEL CADÁVER.....	2
2.3 EXAMEN INTERIOR DEL CADÁVER	3
2.3.1 <i>Gastrointestinal</i>	4
2.3.2 <i>Cardiorrespiratorio</i>	4
2.3.3 <i>Cabeza y cavidad oral</i>	4
2.3.4 <i>Genitourinario</i>	4
2.3.5 <i>Musculoesquelético</i>	4
3. TOMA DE MUESTRAS.....	5
3. TOMA DE MUESTRAS.....	6
3.1 MUESTRAS PARA ASPECTOS SANITARIOS.....	7
3.2 MUESTRAS PARA BRB Y REPRODUCCIÓN.....	7
3.2.1 <i>Medios y soluciones de transporte de material</i>	8
3.2.2 <i>Envío de las muestras</i>	8
3.3 MUESTRAS PARA GENÉTICA	9
ANEXO I. MATERIAL NECESARIO PARA LA NECROPSIA, RECOGIDA DE MUESTRAS Y ENVÍO DE MATERIAL BIOLÓGICO DE LINCE IBÉRICO	10
ANEXO II. CONSERVACIÓN DE RESTOS PARA LA COLECCIÓN ZOOLOGICA.	11
1. DATOS QUE DEBEN ACOMPAÑAR LA PIEL Y EL ESQUELETO	11
2. OTROS ELEMENTOS DE INTERÉS	11
3. PREPARACIÓN	11
3.1 <i>Desollado</i>	11
3.2 <i>Extracciones:</i>	11
3.3 <i>Torax:</i>	11
3.4 <i>Médula ósea:</i>	11
3.5 <i>Médula espinal:</i>	11
3.6 <i>Cráneo:</i>	11
ANEXO III. FICHA DE NECROPSIA	12
ANEXO IV. LISTADO DE COMPROBACIÓN DE MUESTRAS.....	14
ANEXO V DIRECCIONES Y ETIQUETAS PARA EL ENVÍO DE MUESTRAS	16

1. CONSIDERACIONES GENERALES

Los objetivos de la necropsia de un lince ibérico son:

- obtener la máxima información posible para determinar la causa y las circunstancias de la muerte
- obtener el máximo posible de muestras para estudios de enfermedades, toxicología y bancos de recursos biológicos (BRB) y banco de células somáticas
- la conservación de sus restos (piel y esqueleto)

Para alcanzar estos objetivos la necropsia debe ser especialmente ordenada, sistemática y completa; es laboriosa y lleva un tiempo considerable, sobre todo en lo referente a las diferentes muestras a recoger, su forma de conservación y diferentes destinos.

Por ello se recomienda un equipo de 3-4 personas para la realización de una necropsia de lince: una o dos personas realizándola, otra etiquetando las muestras y otra persona supervisando que se realice correctamente y según protocolo.

2. PROTOCOLO DE NECROPSIA

2.1 Historial clínico

Recoger toda la información posible de la procedencia del animal (paraje, término municipal), circunstancias (hora y día en que se encontró, posición del cadáver, ...) y cualquier otra información (anestésias, inyectables administrados, etc.) que se considere relevante de cara a la necropsia

2.2 Examen exterior del cadáver

Todo cadáver debe ser radiografiado para la búsqueda de posibles lesiones como fracturas o masas que no se pudieran detectar en la necropsia, o para la localización de perdigones o microchips. La radiografía debe incluir como mínimo una radiografía ventrodorsal y otra laterolateral de la mitad craneal y de la mitad caudal del cuerpo. Cuando se considere necesario se podrán realizar radiografías adicionales o de otras partes del cuerpo.

Todo cadáver debe ser fotografiado con cámara digital y las fotografías (tras peinar el pelo) serán de cada uno de los flancos, de la zona dorsal de la cabeza, de la zona dorsal del cuerpo, de la zona caudal del tercio posterior y de la zona ventral anterior y de la zona ventral posterior.

Pasar repetidamente el lector de microchips por la zona del cuello (ambos lados) y cruz.

El examen externo incluirá la observación y la palpación. Se examinarán los orificios corporales, estado de mucosas, examen dental completo, y apreciar cualquier tipo de líquido o secreción. Se pesará el cadáver.

El examen incluirá la búsqueda de ectoparásitos (visual, peinado del cuerpo, raspado bajo la barbilla y sobre la trufa en búsqueda de ácaros de sarna, examen de oídos y toma de hisopo en búsqueda de *Otodectes*). Se deben recoger así mismo fauna necrófaga especificando localización.

Examinar la boca y los dientes (piezas deciduas, piezas definitivas, fracturas, presencia de sarro).

La palpación será completa, tanto del sistema músculo esquelético, como de toda la superficie y el abdomen.

Seguidamente se procederá a la extracción completa de la piel, siguiendo las instrucciones para la conservación de restos, y así podremos también observar la

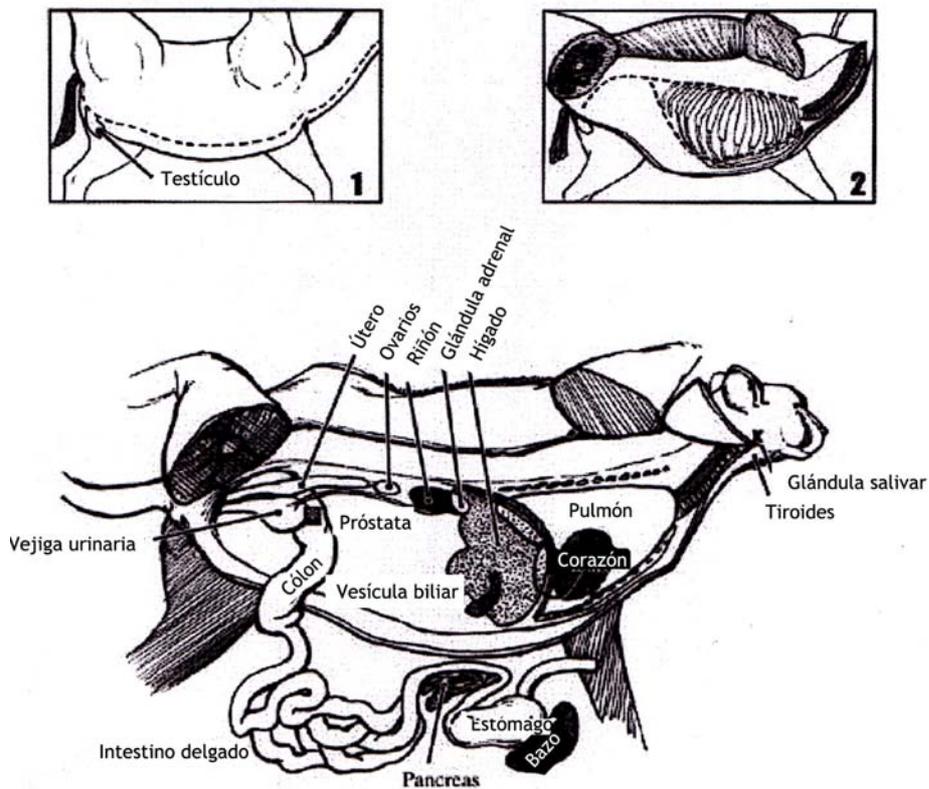
presencia de lesiones como hematomas, hemorragias, heridas o posible presencia de perdigones.

2.3 Examen interior del cadáver

El cadáver se puede colocar en decúbito lateral derecho o en decúbito supino, según preferencias.

Estando en decúbito lateral se puede abducir totalmente el miembro anterior y posterior izquierdo cortando en su caso las uniones musculares de la escápula y liberando por el ligamento la articulación coxofemoral.

En hembras se examinarán las mamas, en los machos prepucio y pene y en neonatos la zona umbilical.



©1997 The University of Tennessee College of Veterinary Medicine

Para abrir el cadáver se iniciará la incisión en la base del cuello, cortando la articulación del ioides. El tórax se procederá a abrir cortando las uniones costocondrales para preservar al máximo la integridad del esqueleto. Una vez abierto se examinará el interior de la cavidad y el aspecto de los órganos, así como posibles lesiones o líquidos orgánicos. Se recogerá el líquido torácico para su posterior centrifugación. Si no lo hubiere, se tomarán trozos de pulmón que se cortarán en pequeños trozos que se centrifugarán para intentar obtener suero (ver figura al final de este apartado).

Para abrir el abdomen se elevará la pared abdominal antes de empezar a incidir evitando así el corte accidental del paquete abdominal. Una vez abierto se examinará el interior de la cavidad y el aspecto de los órganos, así como posibles lesiones o líquidos orgánicos (registrar volumen, color y consistencia).

2.3.1 Cabeza y cavidad oral

Examinar los ojos. Los ojos para histología se deben extraer enteros; se disecciona la piel y musculatura periorbital y se corta el nervio óptico.

Examinar la cavidad bucal ante posibles lesiones (úlceras, etc.).

Para examinar y extraer el cerebro se separa el cráneo de la columna vertebral desarticulando. Se retira la musculatura parietal para que quede visible la zona dorsocaudal del cráneo. Se procede a realizar tres cortes mediante una sierra: uno por detrás de las fosas orbitales y dos laterales siguiendo una línea del foramen mágnam a la intersección del primer corte. Se abre con cuidado la tapa del cráneo. Se retira con sumo cuidado encéfalo y cerebelo, cortando los pares craneales y la médula espinal.

Examinar glándulas salivares y ganglios submandibulares y retrofaríngeos.

2.3.2 Cardiorrespiratorio

Disecar la lengua. Separar los huesos de la laringe por detrás de la lengua y seguir la disección con la tráquea y el esófago unidos. Seguir disecando en el tórax incluyendo pulmones, corazón y grandes vasos. Cortar el esófago unos centímetros antes del hiato esofágico (se puede hacer una ligadura para evitar que salga el contenido)..

Examinar el timo si existe.

Examinar las tonsilas.

Abrir, examinar y tomar muestras de la tráquea y del esófago. Examinar y tomar muestras de los ganglios.

Identificar los diferentes lóbulos pulmonares. Examinar, palpar y abrir los pulmones siguiendo los bronquios. Examinar contenido (sangre, mucosidad, parásitos). Tomar muestras tanto de zonas con apariencia normal como anormal.

Examinar pericardio, y abrir saco pericardio. Abrir cada lado del corazón mediante tijeras siguiendo una línea desde la aurícula al ventrículo, y examinar las válvulas. Examinar los grandes vasos.

2.3.3 Gastrointestinal

Retirar todo el estómago y el intestino como una unidad cortando el mesenterio donde se une al intestino. Existen varios ganglios linfáticos a lo largo de su unión con el intestino. Dejar al páncreas y al bazo unido al intestino y al estómago respectivamente. Corte la unión con el recto después de hacer una ligadura.

El intestino se abrirá longitudinalmente a nivel de la línea de unión con el mesenterio en cada una de sus partes para examinar mucosa y contenido (heces, parásitos visibles). Las secciones que vayan a conservarse en formol y congeladas no se abrirán.

Examinar, palpar y realizar diversos cortes en diversos lóbulos del hígado. Examinar y abrir la vesícula biliar.

Examinar el bazo y pesarlo.

2.3.4 Genitourinario

En machos diseccionar testículos y tomar las muestras según destino (histopatología, congelación, banco de recursos biológicos). Examinar la próstata.

En hembras diseccionar ovarios y abrir útero longitudinalmente; tomar las muestras según destino. Examinar órganos (folículos, cuerpos lúteos).

Examinar riñones y cantidad de grasa perirrenal (pesar riñones con la grasa perirrenal y sin ella); retirar la cápsula y cortar longitudinalmente, para examinar corteza, médula y pelvis.

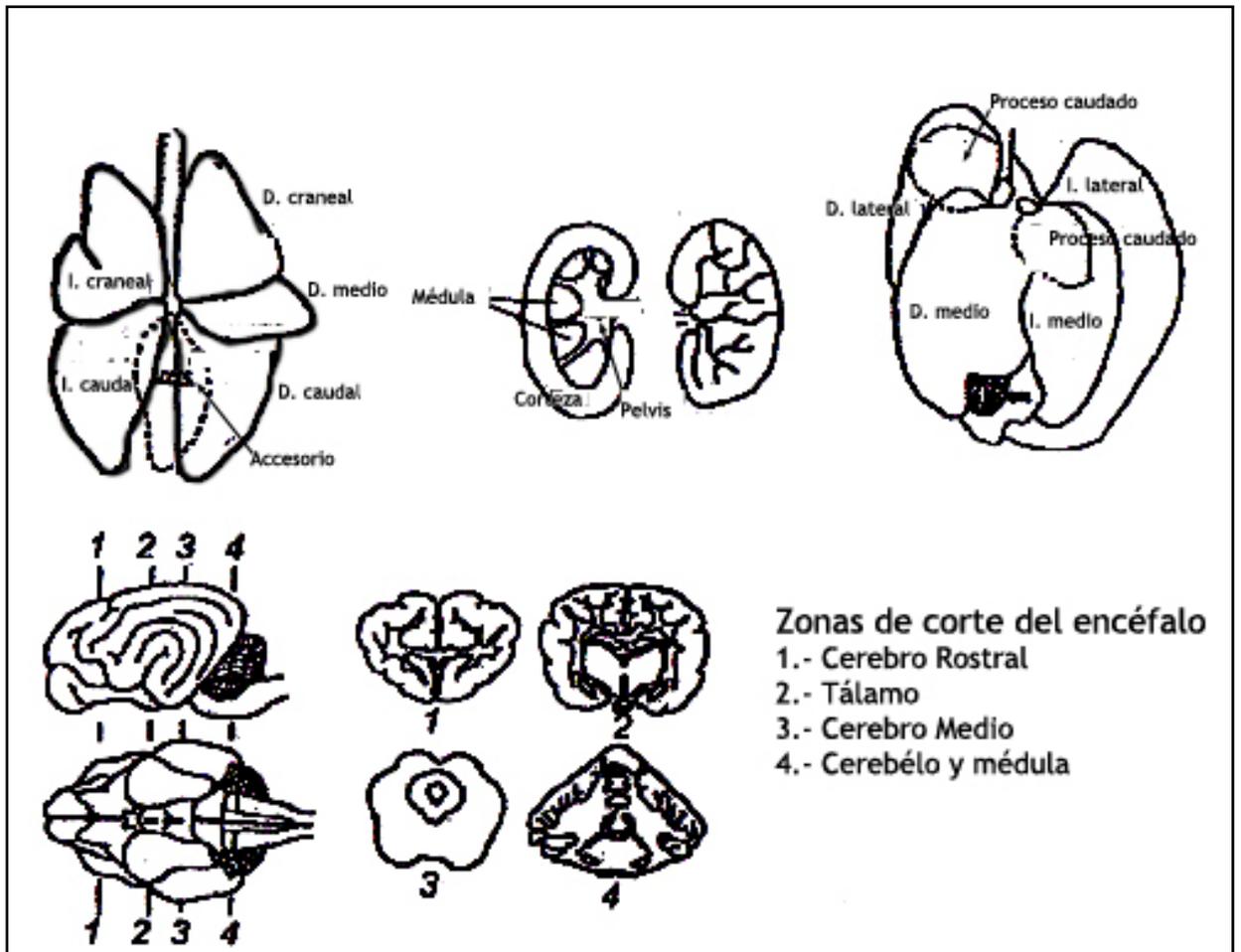
Examinar vejiga, recoger orina abrir y cortar longitudinalmente uretra y uréteres.

Examinar y pesar glándulas adrenales

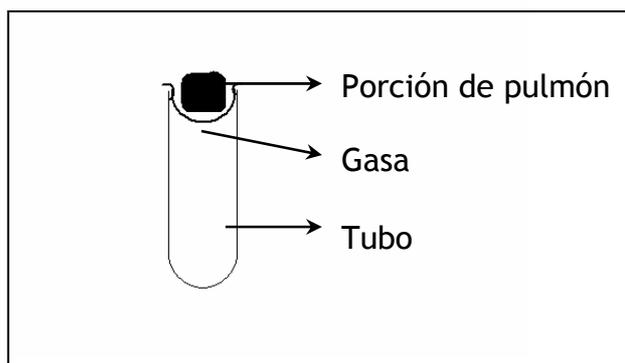
2.3.5 Musculoesquelético

Se tomaran muestras de musculatura (diafragma, lengua) y de algún gran nervio (por ejemplo, ciático).

Para tomar una muestra de médula ósea abrir un hueso largo (por ejemplo costilla o fémur). No extraer la médula, guardar el hueso abierto.



Esquema de las partes de diversos órganos internos (pulmón, riñón, hígado, encéfalo).



Esquema de obtención de suero a partir del centrifugado de secciones de pulmón.

3. Toma de muestras

Independientemente de la causa de la muerte se recogerán todas las muestras especificadas en la tabla. En presencia de lesiones o cuando se considere oportuno, además se recogerán todas las muestras adicionales que se consideren necesarias (hisopos para cultivo, improntas, recolección de líquidos orgánicos, etc).

Las muestras se recogen de forma sistemática para estudios sanitarios (histopatología, toxicología, parasitología, serología, ...), estudios genéticos, Banco de Recursos Biológicos y Banco de Células Somáticas.

Cada sección de muestra para histopatología no será superior a 1 cm. Las muestras se recogerán en una solución de formol al 10%, a la relación de 1 parte de tejido por cada 10 partes de formol. Por comodidad de almacenamiento o envío de las muestras, una vez que los tejidos se hayan fijado durante un mínimo de 72 horas, se pueden pasar a recipientes con menos volumen de formol, el suficiente para mantener los tejidos húmedos.

Además para estudios genéticos, de toxicología y para el banco de tejidos (BRB) para los órganos especificados en la tabla, se recogerá una sección extra que se conservará, según se especifica en DMSO, a -20°C o en N líquido.

Siempre que se pueda, según el estado del cadáver y de igual forma como se haría en un animal vivo se tomará sangre entera en EDTA, frotis de sangre, sangre en heparina lítica, sangre sin anticoagulante, pelos arrancados, hisopos con medio y sin medio de transporte de las diferentes mucosas, heces, orina y parásitos externos.

A continuación se presentan tablas detallada de qué muestras se recogerán, cómo y en qué se conservaran para aspectos sanitarios, genética y BRB/BCS.

3.1 Muestras para aspectos sanitarios

MUESTRAS PARA ESTUDIOS SANITARIOS	
Ojo	Entero, practicar corte en la esclera para que penetre el fijador. Retirar músculos extraoculares y tejidos periorbitales
Párpado	
Encéfalo con pituitaria	Practicar cortes longitudinales a lo largo de la línea media.
Médula espinal	Sección de 3 cm de la región cervical, torácica y lumbar
Lengua	Sección transversal, cerca de la punta, incluyendo las dos superficies mucosas
Esófago	Abrir esófago cuidadosamente y tomar una sección de 3 cm.
Estómago	Abrir estómago a lo largo de su eje longitudinal y tomar secciones de 3 cm de cardias, cuerpo, antro y píloro. Guardar el resto congelado así como su contenido.
Intestino	Tomar secciones sin abrir de 3 cm de duodeno, yeyuno, ileo, ciego y colon. No limpiar el interior del intestino. Guardar el resto del intestino y contenido congelado.
Omento	Sección de 3 cm ²
Diafragma	Sección transversal
Hígado y vesícula biliar	Secciones de tres lóbulos con cápsula y recoger también toda la vesícula biliar. Guardar una sección extra congelada.
Riñón	Corte longitudinal de cada riñón y tomar una sección que incluya corteza, médula y pelvis, de cada riñón. Guardar una sección extra congelada.
Bazo	Sección transversal, con cápsula. Guardar una sección extra congelada.
Páncreas	Secciones de dos zonas diferentes. Guardar una sección extra congelada.
Pulmón	Secciones de varios lóbulos incluyendo un bronquio principal. Guardar una sección extra congelada.
Corazón	Abrir longitudinalmente y tomar una sección que incluya aurícula, ventrículo y válvulas, del lado derecho e izquierdo del corazón, incluyendo grandes vasos
Ganglios linfáticos y tonsilas	Corte transversal de todos los ganglios importantes: craneal, mediastínico, bronquial, superficiales, mesentéricos.
Reproductor	Ovarios y útero abierto longitudinalmente. Todo el testículo en corte transversal. Toda la próstata en corte transversal.
Adrenales	Toda una glándula en sección transversal
Vejiga urinaria, uréter, uretra	Sección de la vejiga y secciones de 2 cm de uréter y uretra. Recoger orina con jeringa.
Timo	Sección representativa
Hueso largo con médula ósea	Mitad de un fémur abierto o una costilla abierta, para que penetre el fijador a la médula ósea
Músculo esquelético	Sección transversal
Tiroides/paratiroides	Glándulas enteras e intactas
Piel	Piel abdominal, en todo su espesor. Guardar sección en N líquido Para el banco de tejidos se tomaran diferentes secciones (ingle, abdomen, parte cercana a las uñas) en una solución antibiótica y se enviaran con urgencia.
Nervio ciático	Sección de 3 cm
Neonato	Cordón umbilical y tejidos circundantes, además de todos los tejidos anteriores siempre que el tamaño del animal lo permita. Guardar secciones de órganos congeladas.

3.2 Muestras para BRB y Reproducción

version 28 octubre 2004 (ER)

Muestras para Banco de Recursos Biológicos del Lince Ibérico (BRB-LI) con sede en el Museo Nacional de Ciencias Naturales (MNCN-Madrid), y para el Banco Celular Somático (BCS), Univ. Miguel Hernández, Elche.

3. 2.1 Medios y soluciones de transporte de material

MNCN-Madrid

- Medio Transporte de Muestras: MTB con antibióticos (provisto por MNCN).
MTB: CO₂-independent Medium (LTI/GIBCO-BRL, Prod. N° 18045-013) con 10% de suero bovino fetal, 100 U/ml penicilina G, 200 µg/ml estreptomina sulfato, 100 µg/ml gentamicina sulfato, 5 µg/ml amfotericina B.
- En ausencia de este medio, utilizar PBS + antibióticos.

UMH-Alicante

- Introducir las muestras en suero fisiológico o PBS con 1% de antibiótico, de preferencia penicilina/estreptomina, (7500 UI y 750 mg).
- Para piel: Desinfectar siempre pero NUNCA con tipo mercurial

3.2.2 Envío de las muestras

- Envío por mensajería urgente.

Muestras para BRB-LI (MNCN-Madrid)	COMENTARIOS
Testículos + epididimos	Entero (sin abrir). Colocar en bolsa de plástico. Enviar refrigerado.
Ovarios	Enteros (sin abrir). Colocar en recipiente estéril con solución PBS+antibióticos. Enviar refrigerado
Utero+oviductos	Completo. Colocar en recipiente estéril con solución PBS+antibióticos. Enviar refrigerado
Piel (epidermis+dermis)	Rasurada y desinfectada con alcohol 70°. Tomar 8 muestras de interior de muslo y de abdomen. Colocar 2 trozos (muestras) por tubo de medio MTB. Enviar refrigerado.
Músculo esquelético	Tomar 8 muestras (colocar 2 trozos por tubo de medio MTB). Enviar refrigerado
Hígado	Tomar 4 muestras (congelar -20°C)
Sangre (si hay)	2 ml (congelar -20°C)
Suero ó Plasma (si hay)	Alícuotas de 0.1-0.2 ml (congelar -20°C)
Heces	En recipiente estéril Tomar 2 muestras de 10 g. Congelar -20°C (-80°C).
Cordón umbilical (si procede)	Lavar con suero fisiológico estéril. Tomar 8 trozos de cordón. Colocar 2 trozos (muestras) por tubo de medio MTB. Enviar refrigerado.
Placenta (si procede)	Lavar con suero fisiológico estéril. Tomar 8 trozos de cordón. Colocar 2 trozos (muestras) por tubo de medio MTB. Enviar refrigerado.
NOTA IMPORTANTE: Si hay fetos	Considerar cada uno como un individuo diferente y obtener todas las muestras indicadas arriba

Muestras para UMH-Alicante	COMENTARIOS
Piel (epidermis+dermis)	Rasurada (se puede mojar). Tomar varios centímetros de diferentes sitios (ingle, abdomen, parte cercana a uñas)
Músculo esquelético	Tomar varios centímetros de diferentes zonas
Duodeno e ileon	Abrir cuidadosamente a lo largo de su eje longitudinal, lavar la luz con suero fisiológico estéril y tomar una sección de 3-6 cm de cada zona
Médula espinal	Sección de 3-5 cm de la región cervical, torácica y lumbar
Hueso largo con médula osea	Mitad de un fémur abierto o una costilla abierta (x3)
Mucosa oral	Varios centímetros
Cordón umbilical (si procede)	Varios centímetros de cordón umbilical lavado con suero fisiológico estéril.
Placenta (si procede)	Varios centímetros, lavada con suero fisiológico estéril.

3.3 Muestras para genética

Muestras	Volumen	Conservación
Biopsia de piel	2 tubos	N líquido
Pulmón	2 x 1 cm ³	DMSO/sal, TA
Hígado	2 x 1 cm ³	DMSO/sal, TA
Músculo	2 x 1 cm ³	DMSO/sal, TA

Anexo I. Material necesario para la necropsia, recogida de muestras y envío de material biológico de Lince Ibérico

- Instrumental
 - Hojas de bisturí
 - Mangos de bisturí
 - Cuchillos de cocina
 - Mosquitos
 - Tijeras
 - Pinzas
 - Sierra de marquetería
 - Podadora

- Fungible
 - Gasas
 - Hilo de sutura con aguja
 - Formol 10% tamponado
 - DMSO líquido
 - Gel de sílice
 - Solución PBS y solución MTB
 - Alcohol 70%
 - Botes de plástico
 - 50 cc
 - 100 cc
 - 500 cc
 - Guantes de latex
 - Escobillones estériles sin medio de transporte
 - Escobillones estériles con medio de transporte
 - Tubos de sangre para separación de suero
 - Tubos de sangre con EDTA
 - Tubos de sangre con heparina
 - Portas
 - Bolsas ZipLoc
 - Agujas
 - Jeringas
 - Bolsas de plástico

- Envios de muestras
 - Caja de porexpan (min.3)
 - Acumuladores de frío (min. 30)
 - Cinta adhesiva

- Otro material
 - Cámara fotográfica digital
 - Pie de foto con regla
 - Cinta métrica para morfometría
 - Lector de microchips

Anexo II. Conservación de restos para la colección zoológica.

1. Datos que deben acompañar la piel y el esqueleto



Etiqueta u hoja identificativa del individuo datada con:

- 1.- Localidad donde se halló
- 2.- Fecha
- 3.- Causa de muerte
- 4.- Peso corporal (anterior a cualquier incisión o extracción)
- 5.- Medidas (las de la ficha del programa de conservación del lince ibérico)
- 6.- Información sobre el contenido estomacal
- 7.- nº de fetos
- 8.- Parásitos internos

2. Otros elementos de interés

- nº del CREA
- collar, anilla o microchip deben acompañar al ejemplar

3. Preparación

3.1 Desollado

Conviene una única incisión longitudinal (la hoja adjunta) que se ramifica para cada extremidad

3.2 Extracciones:

Deben de realizarse sobre la línea de corte, sin hacer cortes nuevos

3.3 Tórax:

Una única incisión lateral que coja el menor nº de costillas. A ser posible las costillas deben de cortarse por la mitad, mejor que por los extremos.

3.4 Médula ósea:

De la parte media del fémur

3.5 Médula espinal:

arqueando la columna vertebral y separar vértebras con bisturí sin partir vértebras

3.6 Cráneo:

Conviene disponer de las dimensiones máximas (longitud, altura y anchura). Para extraer el cerebro se puede abrir el cráneo empleando sierra de corte fino.

Anexo III. Ficha de necropsia

Caso # _____

Identificación del animal/Chip _____ Stud Book nº _____

Procedencia _____ Provincia _____

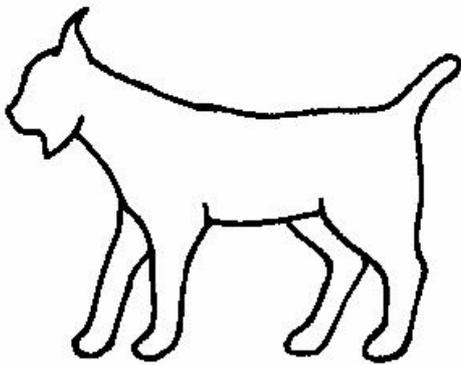
Fecha de muerte _____ Fecha de necropsia _____

Historia clínica (persona que lo encuentra, circunstancias de la muerte, historial clínico, signos clínicos, adjuntar análisis, radiografías y otras pruebas realizadas)

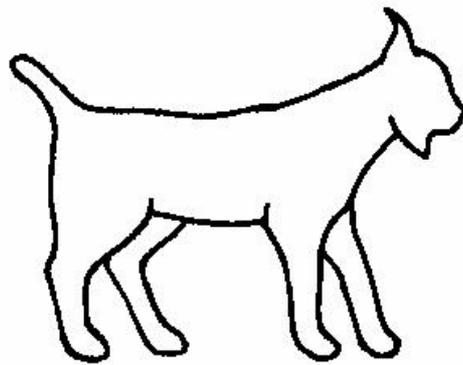
Sospecha de la causa de muerte

Edad _____ / Sexo: ♂ ♀ / Preñada: sí - no

PESO (gr.) _____	Engrasamiento <u>1</u> <u>2</u> <u>3</u> <u>4</u> <u>5</u>		
MEDIDAS: (cm)			
Long. total _____	Long. cola _____	Alt. cruz _____	Per. Torácico _____
Long. tarso _____	Long. oreja _____	Cráneo _____	
Riñón+Grasa _____ / _____	Riñón _____ / _____	Bazo _____	Adrenales _____ / _____
I D	I D		I D



Lado izquierdo



Lado derecho

HALLAZGOS SIGNIFICATIVOS DE LA NECROPSIA

- Apariencia externa, piel, sist. músculo-esquelético

- CABEZA

Ojos, párpados

Cavidad bucal

- SNC

- CAVIDAD TORÁCICA

Resp. Superior

Timo

Corazón

Pulmón

- CAVIDAD ABDOMINAL

Estómago (esófago)

Intestino

Hígado, vesícula

Páncreas

Bazo

Riñón

Adrenales

Vejiga orina

Reproductor

- SISTEMA LINFÁTICO

- OTROS

DIAGNÓSTICO PRELIMINAR

OBSERVACIONES

Anexo IV. LISTADO DE COMPROBACIÓN DE MUESTRAS

Conservación			-20°C	4-8 °C	4-8 °C	4- 8 °C	-20°C
Medio	FORMOL 10%	Gluteraldehído	-	MTB	PBS con Antibiót.	-	DMSO
Destino	FVM	FVM	E	MNCNM	UMH	CL	EBD
Piel							
Ojo							
Párpado							
Lengua							
Tonsilas							
Tiroides/Paratiroides							
Tráquea							
Pulmón							
Corazón							
Mucosa oral							
Esófago							
Estómago							
Hígado			x3 (toxi, cultivo)				
Bazo			x2 (cultivo)				
Páncreas							
Intestino delgado							
Ciego							
Intestino grueso			cultivo				
Omento							
Riñón			x2				
Adrenal							
Vejiga u., uréter, uretra							
Reproductor				Testic .sin medio/Ovarios en PBS			
Encéfalo							
Médula espinal							
Hueso con médula ósea							
Músculo esquelét.			toxi				
Grasa			toxi				
Gg. retrofar/submand							
Gg. bronquial/mediastín							
Gg. subescapul/axilar							
Gg. poplíteo							
Gg. ileocecal							
Gg. mesentérico							
Diafragma			triquina				
Timo							
Nervio ciático							

Conservación	FORMOL 10%	GLUTER.	-20°C	4-8 °C	4-8 °C	4- 8 °C	-20°C
Destino	FVM	FVM	E	MNCNM	UMH	CL	EBD
Sangre EDTA							
Sangre Heparina							
Suero							
Heces							
Endoparásitos			Alcohol 70°				
Ectoparásitos			4° (nevera)				

- En cualquier caso, siempre que se observe una lesión se conservará parte en formol y parte congelada.
- Las muestras con la misma leyenda (toxi, cultivo, triquina): introducir en el mismo frasco todas las muestras.
- Suero: extraer todo el líquido posible de tórax o corazón. Conservar parte en EDTA, parte en heparina y el resto centrifugarlo para obtener suero. En caso de no presentar sangre en el tórax, intentar obtener del pulmón (ver protocolo).

FVM =Facultad de Veterinaria de Madrid (L.Peña)

E =Egmasa (J.Millán)

MNCM =Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid (E.Roldán)

UMH =Universidad Miguel Hernández, Alicante (T.León)

CL =Clinical Laboratory, Suiza (H.Lutz)

EBD =Estación Biológica de Doñana, Sevilla (J.Godoy)