

Inmovilización química y evaluación fisiológica de comadreja overa, *Didelphis albiventris* (Lund, 1841) silvestres de la provincia de Santa Fe, Argentina.

Chemical immobilization and physiological evaluation of wild white eared opossums, *Didelphis albiventris* (Lund, 1841) of Santa Fe province, Argentina

Tarragona, E.L.^{1,3}; Zurvera, D.^{1,3}; Manzoli, D.E.^{1,3,5}; Correa, A.I.^{1,3}; Delgado, A.R.^{2,3}; Magni, C.^{3,4}; Beldomenico, P.M.^{1,3,5}

¹Laboratorio de Ecología de Enfermedades, ²Cátedra de Bacteriología y Micología, ³Grupo de estudio dirigido "Capibara", ⁴Cátedra de Patología. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral. Kreder 2805 (3080) Esperanza, Santa Fe, Argentina. ⁵Concejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar la eficacia de un protocolo de anestesia con ketamina-diazepam en 42 ejemplares de *D. albiventris* de vida libre y determinar cuáles eran las variables que repercuten en su éxito. Las variables respuesta evaluadas fueron: si fue necesaria suplementación de dosis y tiempo al efecto deseado del fármaco en minutos. Las variables independientes fueron: sexo, peso, edad, condición corporal, largo total, frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria, temperatura y actividad. Individuos de talla mayor presentaron mayor probabilidad de necesitar suplementación ($p=0.0686$). Las hembras necesitaron más tiempo para alcanzar el plano anestésico deseado ($p=0.0008$). Además, el tiempo transcurrido para obtener el efecto deseado fue mayor en aquellos animales que presentaban frecuencia cardiaca y temperatura corporal elevada ($p=0.0068$, $p=0.0013$). La misma situación ocurrió con los individuos de mayor peso y edad ($p=0.0057$, $p=0.0038$).

Palabras claves: (Marsupial), (Didelphidae), (Anestesia), (Argentina).

Correspondencia *e-mail*: Evelina Tarragona evelina_tarragona@hotmail.com

Recibido: 20-05-2012

Aceptado: 29-12-2014

SUMMARY

The objective of this study was to evaluate the effectiveness with a protocol for ketamine-diazepam anesthesia in 42 free life of *D. albiventris* specimens and determine what variables affect their success. The response variables evaluated were: if a dose supplementation was necessary and time needed for the desired effect of the drug in minutes. The independent variables were sex, weight, age, body condition, total length, heart rate, respiratory rate, temperature and activity. Larger sized individuals were more likely to need supplementation ($p=0.0686$). The females needed more time to reach the desired anesthetic plane ($p=0.0008$). Furthermore, the time needed to obtain the desired effect was greater in animals with heart rate and body temperature ($p=0.0068$, $p=0.0013$). The same situation occurred in individuals of greater weight and age ($p=0.0057$, $p=0.0038$).

Key words: (Marsupial), (Didelphidae), (Anaesthetic), (Argentina).

INTRODUCCIÓN

En Argentina existen tres especies pertenecientes al género *Didelphis*: comadreja de orejas blancas *Didelphis pernigra* (J. A. Allen 1900), comadreja de orejas negras *D. aurita* (Wied- Neuwied 1826) y comadreja overa o común *D. albiventris* (Lund 1841). Esta última es el marsupial más abundante en territorio Argentino.

Es relevante estudiar la dinámica de salud en poblaciones silvestres de *D. albiventris* debido a que estos animales frecuentemente habitan ambientes urbanos y periurbanos y pueden actuar como reservorios de diferentes patógenos responsables de zoonosis, como es el caso de ciertas enfermedades tales como leishmaniasis²⁴, leptospirosis⁵, mal de Chagas^{16;20;24}, toxoplasmosis, neosporosis²⁵, salmonelosis⁴ y brucelosis⁶. Además, estudios experimentales realizados por Horta *et al.*¹¹ demostraron que estos marsupiales actuarían como amplificadores de *Rickettsia rickettsii*, el principal agente causal de fiebre manchada en América.

Al trabajar con animales silvestres en su medio natural, se hace indispensable conocer la metodología de inmovilización, tanto química como física para la especie en cuestión, generando así el menor estrés posible en el individuo, una mejor y eficaz metodología de

trabajo y reducción de posibles riesgos para el operario. En la actualidad se dispone de poca información específica sobre protocolos de inmovilización química en esta especie. Para obtener información de poblaciones silvestres es indispensable la captura de comadreas de vida libre, motivo por lo cual se hace necesario contar con un protocolo de restricción química efectivo.

La ketamina es un anestésico disociativo, esto quiere decir que el individuo se encuentra disociado o ajeno al medio que lo rodea durante la inducción¹⁹. Esta droga se administra en forma intravenosa o intramuscular. A pesar de que esta última es la menos recomendada, debido a que provoca una irritación en el sitio de administración a causa de su pH ácido¹⁹, es la más utilizada en animales silvestres de vida libre. Esto se debe a que algunas especies presentan una agresividad que pone en riesgo la integridad del operario. La ketamina se utiliza en asociación con miorrelajantes, como benzodiazepinas¹⁹. Esta asociación logra contrarrestar los efectos adversos del anestésico tales como: aumento del tono muscular esquelético, cuadros convulsivos, que dificultan el trabajo sobre el animal.

En marsupiales de Australia se han utilizado anestésicos disociativos como la tiletamina, compuesto del mismo grupo que la ketamina, en asociación con zolazepam, una benzodiazepina¹⁰. Estas drogas son utilizadas en perros y gatos

con excelentes resultados, pero en marsupiales tuvieron poco éxito, debido a que los tiempos de recuperación fueron prolongados¹⁰. En un trabajo realizado en vizcachas silvestres de vida libre (*Lagostomus maximus*) se registraron los mismos problemas utilizando dichos fármacos, y se obtuvo un mejor plano anestésico con ketamina⁹. Del mismo modo Bouts y colaboradores obtuvieron inducción y mantenimiento de anestesia satisfactorios en wallabies (*Macropus rufogriseus*) utilizando una asociación de ketamina- medetomidina².

El objetivo del presente estudio es evaluar la eficacia de un protocolo de inmovilización química con ketamina y diazepam, evaluando las variables que repercuten en su éxito.

MATERIALES Y MÉTODOS

En el presente estudio, se realizaron capturas de *D. albiventris* de vida libre en la Reserva Natural de la Escuela Granja de la Universidad Nacional del Litoral, entre los años 2005 y 2011. Esta reserva consta de una superficie total de 70 hectáreas localizadas a la vera del río Salado, un importante corredor biológico en la ciudad de Esperanza, departamento Las Colonias, provincia de Santa Fe. El mismo está ubicado dentro de la provincia fitogeográfica pampeana correspondiente al dominio chaqueño (31,23° S. 60,54° W)^{3,7}. Para realizar las capturas se utilizaron trampas tipo Tomahawk cebadas con pollo y el agregado de banana, manzana y extracto de miel, dispuestas en 4 transectas predeterminadas²³. Los individuos capturados fueron anestesiados en el sitio de captura, para lo que se utilizó ketamina, de la cual se compararon dos dosis, 15 y 20 mg/kg (concentración de 50 mg/ml), y un miorrelajante, diazepam 0,5 mg/kg (concentración de 5 mg/ml), por vía intramuscular.

Durante la anestesia, se determinó el estado corporal. Este último fue estimado mediante la escala de 6 puntos para la evaluación del score corporal de marsupiales de Australia, utilizado por Mc Arthur¹⁴. Cada individuo anestesiado fue pesado, medido (largo total, largo de cola, largo de oreja y largo de pata) y sexado. Para el caso

de hembras sexualmente activas se determinó además, condición de marsupio lleno. Debido a que *D. albiventris* es un marsupial, las crías nacen después de 10 días de gestación como embrión y terminan su maduración en el marsupio después de dos meses¹⁷. El momento durante el cual las crías permanecen fijadas en el marsupio lo hemos denominado como: marsupio lleno.

Los individuos que desarrollaron más de 30 minutos para entrar en plano anestésico deseado fueron suplementados con 7,5 o 10 mg/kg de ketamina, como dosis refuerzo.

Las constantes fisiológicas, temperatura corporal, frecuencias cardíaca y respiratoria, fueron registradas cada 10 minutos durante el acto anestésico. También se determinó la edad, considerando erupción y desgaste dentario de los maxilares superiores²¹. Tras finalizar el procedimiento, todos los animales capturados fueron vueltos a colocar en su trampa y liberados cuando se recuperaron del estado de anestesia. Los datos obtenidos del protocolo anestésico realizado a campo, fueron analizados mediante estadística paramétrica.

Las variables dependientes a evaluar fueron: si se necesitó suplementación o no (dosis suplementaria de anestésico) y tiempo al efecto deseado en minutos (tiempo transcurrido entre la hora de aplicación inicial del fármaco y la hora de efecto inicial).

Las variables independientes evaluadas, que influyen a las variables respuesta, fueron: sexo, peso, edad, condición corporal, largo total, frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, temperatura y actividad (comportamiento del animal en el interior de la trampa de captura y previo al acto anestésico). Esta variable se definió como calmado, activo o excitado).

El análisis estadístico utilizado fue regresión logística multivariable (cuando la respuesta fue necesidad de suplementación) o lineal (cuando la respuesta fue tiempo al efecto deseado en minutos), eliminando los términos que no mejoraban el ajuste del modelo según el criterio de información de Akaike¹. Para ello se utilizó el paquete de software estadístico R (R Foundation for Statistical Computing).

RESULTADOS

De los 42 individuos sometidos a anestesia, 20 (47%) fueron hembras y 22 (53%) machos. Siendo 31 (73%) adultos y 11 (27%) juveniles. De las 20 hembras anestesiadas tres se encontraban en estado de marsupio lleno.

En todos los casos se comprobó recuperación total de los individuos previa su liberación. No hubo reacciones adversas ni contingencias durante los procedimientos.

Ninguno de los términos considerados como variables independientes tuvieron asociación significativa con la necesidad de suplementación anestésica. No obstante, la variable que se encontró más cerca de estar significativamente asociado fue largo total ($p=0.0686$). La tendencia fue que los individuos de mayor longitud, y por lo tanto los de mayor tamaño, presentaron mayor probabilidad de necesitar suplementación de dosis (figura 1).

En el caso de tiempo al efecto deseado, las variables asociadas significativamente fueron sexo ($p=0.0008$), frecuencia respiratoria ($p=0.0068$), temperatura ($p=0.0013$), peso ($p=0.0057$) y edad ($p=0.0038$). Las hembras necesitaron más tiempo para alcanzar el plano anestésico deseado (figura 2). Este grado de significancia no fue modificado entre hembras con marsupio lleno y no.

Cuando las variables temperatura y frecuencia respiratoria eran mayores, también lo era el tiempo transcurrido para obtener el efecto deseado. La misma situación ocurrió con el peso y la edad. En los individuos de mayor peso y más viejos, el tiempo transcurrido para obtener el efecto deseado fue mayor.

DISCUSIÓN

El presente trabajo es el primer reporte de evaluación de inmovilización química en poblaciones silvestres de *D. albiventris*.

Se establecieron asociaciones significativas entre sexo y tiempo al efecto deseado, y una tendencia significativa mínima de necesidad de suplementación en animales de mayor tamaño. Las hembras necesitaron mayor tiempo que los

machos para alcanzar el efecto deseado. Esto indicaría que, presumiblemente, el metabolismo basal de las hembras de *D. albiventris* sería mayor en relación a los machos. Estudios realizados en aves de Australia, demostraron que el metabolismo basal de las hembras es mayor que el de los machos de la misma especie¹³. Como en la mayoría de los mamíferos, el metabolismo basal es mayor en machos que en hembras¹⁵, sería de interés determinar la causa de dicha asociación inversa en marsupiales mediante estudios de actividad metabólica, que involucren un mayor número de individuos.

Los resultados indican que puede anticiparse el tiempo al efecto deseado teniendo en cuenta el peso, sexo, edad, temperatura y frecuencia respiratoria.

En cuanto a la efectividad del protocolo, se puede concluir que la asociación ketamina–diazepam a las dosis utilizadas fue efectiva en cuanto a inmovilización del animal y anulación de la percepción de estímulos. También se comprobó su seguridad, no presentándose decesos ni reacciones adversas graves en ninguno de los 42 procedimientos. Este protocolo anestésico fue utilizado en otros trabajos realizados en animales silvestres, desde marsupiales de Australia y de América, hasta mamíferos terrestres y acuáticos, demostrando resultados satisfactorios en cuanto a inmovilización^{8;9;12;18;22}. Estudios realizados por Feldman y Self en *Didelphis virginiana* utilizando diferentes dosis de ketamina demostraron que a una dosis de 25 mg/kg se lograba una relajación muscular pronunciada, pero los efectos analgésicos no eran marcados⁸. Los resultados de Feldman y Self se relacionan con los del presente trabajo. A raíz de estos hallazgos se puede considerar a este protocolo como de elección en comadreas para realizar tareas como: extracción de sangre, evaluación de estado corporal, búsqueda de ectoparásitos, medición de temperatura, morfometría y aplicación de tatuaje o dispositivo de rastreo. Estudios posteriores de percepción del dolor son necesarios para determinar el uso de este protocolo en *D. albiventris* como analgésico somático estricto.

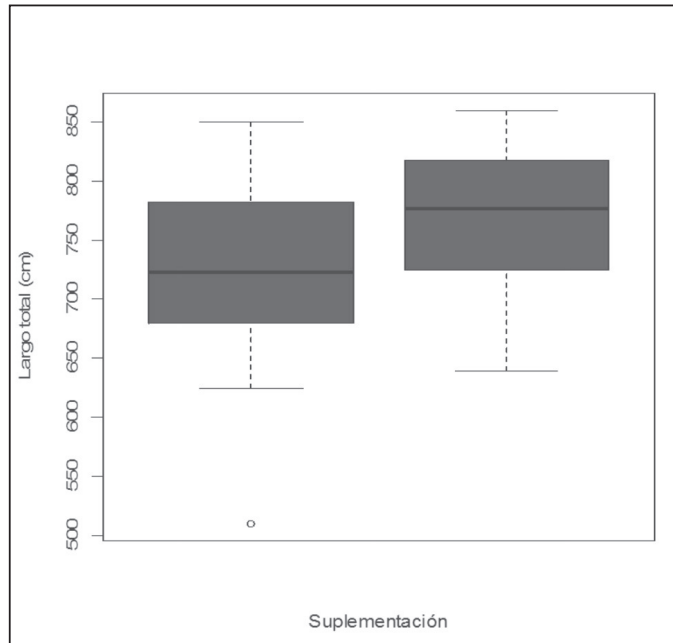


Figura 1: Relación del largo total (cm) con la necesidad de suplementación o no. Los individuos con un largo total mayor tuvieron más probabilidad de necesitar suplementación de dosis que individuos de longitud menores.

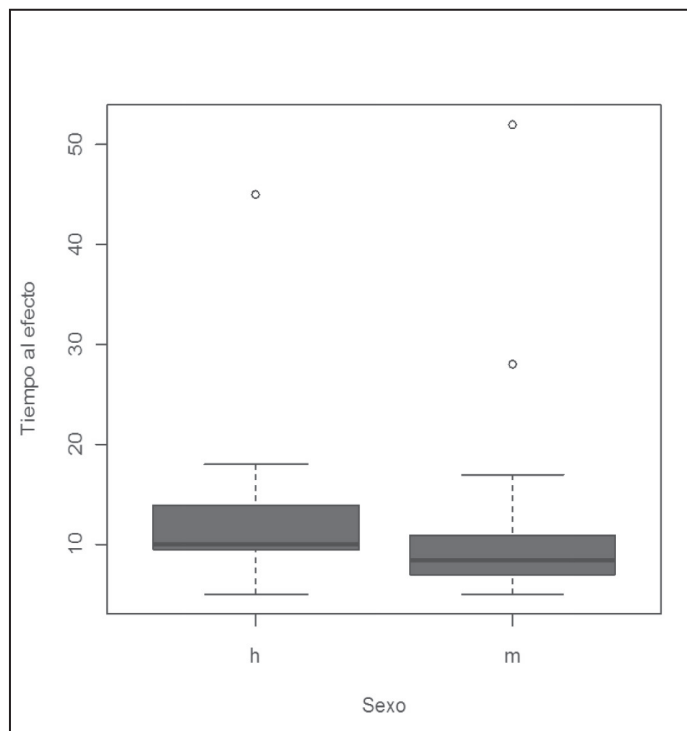


Figura 2: Relación del tiempo al efecto deseado del fármaco (min) con el sexo del individuo. Las hembras necesitaron mayor tiempo para alcanzar el plano anestésico deseado.

Finalmente, el presente protocolo de anestesia permite optimizar las dosis a utilizar basándonos en las características del individuo a anestesiar, como ser: sexo, largo total, peso, edad, temperatura y frecuencia respiratoria. Siendo difícil determinar sexo, temperatura y frecuencia respiratoria previa a la administración del anestésico, el tamaño del ejemplar nos puede orientar sobre la dosis de anestésico a utilizar. Es necesario realizar nuevos estudios para corroborar la causalidad de las asociaciones planteadas en este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Akaike, H. A new look at the statistical model identification. *IEEE. Transactions on Automatic Control*. 1974; AC-19: 716-723.
2. Bouts, T.; Karunaratna, D.; Berry, C.; Gasthuys, F.; Routh, A.; Taylor, P. Evaluation of Medetomidine-Alfaxalone and Medetomidine-Ketamine in semi-free ranging bennett's wallabies (*Macropus rufogriseus*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. 2011; 42(4): 617-622.
3. Cabrera, AL. Regiones Fitogeográficas Argentinas. Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería. 1994. Primera reimpresión, tomo 2, fascículo 1. (Ed.), Acme S.A.C.I.3-42p.
4. Casagrande, RA. Isolamento de *Salmonella enterica* em gambás (*Didelphis aurita* e *Didelphis albiventris*) do Estado de São Paulo, Brasil. *Cienc. Rural*. 2011; 41 (3): 492-496.
5. da Silva, FJ.; Silva, TR.; Silva, GCP.; Pereira dos Santos, CE.; Alves Júnior, JRF.; Mathias, LA. Isolation of *Leptospira borgpetersenii* in synanthropic *Didelphis albiventris* in Jaboticabal, São Paulo, Brazil. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci*. 2013; 50(6): 457-461.
6. De La Vega, E.; García Carrillo, C. Infección natural por *Brucella* en comadrejas (*Didelphis marsupialis*) en la república Argentina. *Red. Med. Vet. Bs As*. 1979; 60 (5): 283-286.
7. Exner, E.; D'Angelo, CH.; Pensiero, JF. Vegetación y Flora de la Reserva Universitaria de la Escuela Granja de Esperanza. *Revista FAVE de Cs. Agrarias*. 2005; 3(1-2): 52-63.
8. Feldman, DB.; Self, JL. Sedation and anesthesia of the Virginia opossum, *Didelphis virginiana*. *Laboratory animal science*. 1971; 21(5): 717-720.
9. Ferreira, H.; Uhart, M.; Beldomenico, PM. Inmovilización química y evaluación de salud de viscachas salvajes (*Lagostomus maximus*) en el chaco árido Argentino. *Arg Cien. Vet. Zool. Unipar; Umuarama*. 2007; 10 (2): 91-99.
10. Holz, P. Immobilization of marsupials with tiletamine and zolazepam. *Journal of zoo and wildlife medicine*. 1992; 23(4): 426- 428.
11. Horta, MC.; Moraes-Filho, J.; Casagrande, RA.; Saito, TB.; Rosa, SC.; Ogrzewalska, M.; Matushima, ER.; Labruna, MB. Experimental infection of opossums *Didelphis aurita* by *Rickettsia rickettsii* and evaluation of the transmission of the infection to ticks *Amblyomma cajennense*. *Vector-borne and Zoonotic Diseases*. 2009; 9(1): 109-117.
12. Kreeger, P.; Amemo, JM.; Raath, JP. Handbook of wildlife chemical immobilization - International edition. Wildlife Pharmaceuticals Incorporated, 2002.
13. Maloney, SK.; Dawson, TJ. Sexual dimorphism in basal metabolism and body temperature of a large bird, the emu. *The Condor*. 1993; 95: 1034-1037.
14. Mc Arthur, C.; Goodwin, A.; Turner, S. Preferences, selection and damage to seeding under changing availability by two marsupial herbivores. *Forest Ecology and management*. 2000; 139: 157-173.
15. Nagy, K. A. Field bioenergetic of mammals- What determines field metabolic rate. *Journal of Zoology*. 1994; 42 (1): 43-53.
16. Orozco, MM.; Enriquez, GF.; Alvarado-Otegui, JA.; Cardinal, MV.; Schijman, AG.; Kitron, U.; Gürtler, RE. New Sylvatic Hosts of *Trypanosoma cruzi* and Their Reservoir Competence in the Humid Chaco of Argentina: A Longitudinal Study. *Am. J. Trop. Med. Hyg*. 2013; 88(5): 872-882.
17. Parera, A. Los mamíferos de la Argentina y la región

- austral de Sudamérica. 1° Edición. El Ateneo, Argentina, 2002
18. Ramsden, RO.; Coppin, PF.; Johnston, DH. Clinical observations on the use of Ketamine Hydrochloride in wild carnivores. *Journal of Wildlife Diseases*. 1976; 12: 221-225.
 19. Rubio, MR.; Boggio, JC. Anestésicos inyectables y sedantes imnóticos (175- 178). *Farmacología Veterinaria*. Editorial Universidad Católica. Córdoba. 2005. 642 p.
 20. Schweigmann NJ. Aspectos ecológicos de una población santiagueña de la comadreja overa (*Didelphis albiventris*) en relación con la transmisión del *Trypanosoma cruzi* [tesis doctoral]. Buenos Aires: Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires. 1994.
 21. Schweigmann, NJ; Pietrokovsky, S.; Bottazzi, V. Estudio de la prevalencia de la infección por tripanosoma cruzi en *Didelphis albiventris* en Santiago del Estero, Argentina. *Revista Panamericana Salud Publica*. 1999; 6 (6): 371-377.
 22. Shaughnessy, P. D. Immobilisation of crabeater seals, *Lobodon carcinophagus*, with Ketamine and Diazepam. *Wildlife Research*. 1991; 18 (2):165-168.
 23. Tarragona, EL.; Zurvera, D.; Manzoli, DE.; Correa, AI.; Delgado, AR.; Mastropaolo, M.; Barengo, E.; Beldomenico, PM. Parámetros hematológicos de la comadreja overa, *Didelphis albiventris* (Lund, 1841), de poblaciones silvestres del centro de la Argentina. *Rev. InVet*. 2011. 13(2): 97-105.
 24. Travi, BL.; Jaramillo, C.; Montoya, J.; Segura, I.; Zea, A.; Goncalves, A.; Velez, ID. *Didelphis marsupialis*, an Important Reservoir of *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* and *Leishmania (Leishmania) chagasi* in Colombia. *Am J Trop Med Hyg*. 1994; 50: 557-565.
 25. Yai, LEO. Seroprevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* Antibodies in the South American Opossum (*Didelphis marsupialis*) From the City of Sao Paulo, Brazil. *The Journal of Parasitology*. . 2003; 89 (4): 870-871.