

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/336107388>

# PROTOCOLO DE NECROPSIA BALLENA FRANCA AUSTRAL VERSIÓN PRELIMINAR 2014

Technical Report · September 2019

CITATIONS

3

READS

1,130

5 authors, including:



**Andrea D. Chirife**

31 PUBLICATIONS 431 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



**Marcela M Uhart**

University of California, Davis

138 PUBLICATIONS 2,238 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



**Virginia Rago**

National Scientific and Technical Research Council

15 PUBLICATIONS 240 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



**Victoria Rowntree**

University of Utah

57 PUBLICATIONS 2,374 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



Mejoramiento del control de la trichinellosis en Argentina [View project](#)



Wildlife Friendly Patagonian Fiber: Building capacity for sustainability of guanaco use. [View project](#)

# PROTOCOLO DE NECROPSIA BALLENA FRANCA AUSTRAL

(*Eubalaena australis*)



Versión preliminar

## Península Valdés, Chubut, Argentina

Realizado por Andrea Chirife<sup>1</sup>

Con la colaboración de Marcela Uhart<sup>1,2</sup>, Mariano Sironi<sup>1,3</sup>, Virginia Rago<sup>1,4</sup> y Victoria Rowntree<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Programa Monitoreo Sanitario Ballena Franca Austral

<sup>2</sup> One Health Institute, University of California, Davis

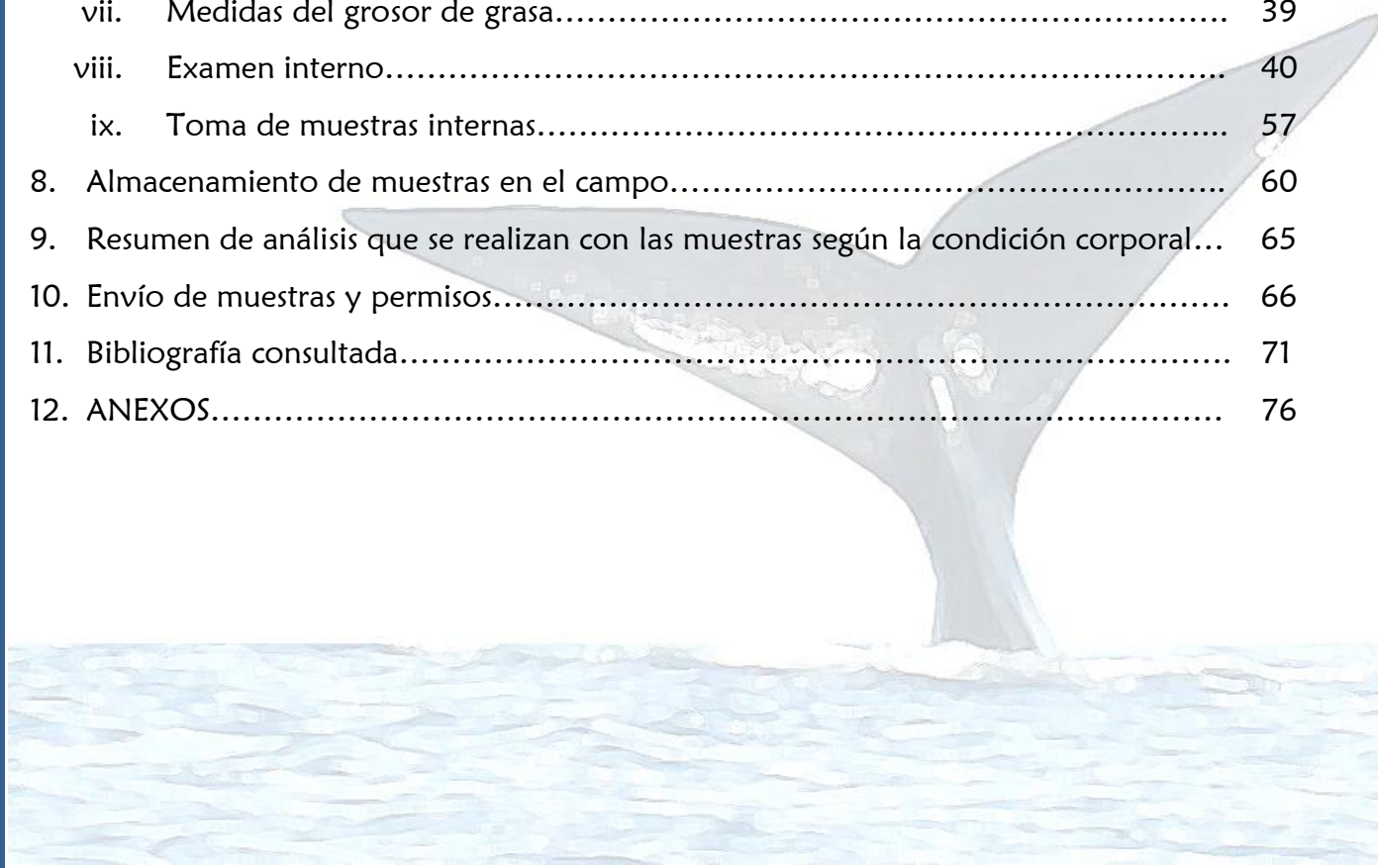
<sup>3</sup> Whale Conservation Institute / Instituto de Conservación de Ballenas

<sup>4</sup> Wildlife Health & Health Policy Program, Wildlife Conservation Society, Argentina

## ÍNDICE

Páginas

1. Prefacio y agradecimientos.....	3
2. Características generales de los cetáceos y de la ballena franca austral.....	4
3. Programa Monitoreo Sanitario Ballena Franca Austral.....	7
4. Salud Humana y protección personal.....	8
5. Equipo de necropsia.....	10
6. Metodología de campo.....	14
<b>7. Protocolo de necropsia:</b>	
Introducción.....	16
i. Información general.....	17
ii. Fotografías.....	23
iii. Morfometría.....	23
iv. Examen: consideraciones generales.....	24
v. Examen externo.....	25
vi. Toma de muestras externas.....	35
vii. Medidas del grosor de grasa.....	39
viii. Examen interno.....	40
ix. Toma de muestras internas.....	57
8. Almacenamiento de muestras en el campo.....	60
9. Resumen de análisis que se realizan con las muestras según la condición corporal...	65
10. Envío de muestras y permisos.....	66
11. Bibliografía consultada.....	71
12. ANEXOS.....	76



## PREFACIO

El presente protocolo se basa en la experiencia adquirida dentro del marco del “Programa Monitoreo Sanitario Ballena Franca Austral” (PMSBFA) que se desarrolla desde el año 2003 en Península Valdés, provincia de Chubut, Argentina. Las técnicas de necropsia y toma de muestras que se describen están dirigidas principalmente al estudio de crías de ballena franca austral, ya que esta categoría etaria compone cerca del 90% de las muertes registradas en la zona.

Este protocolo se desarrolló con la intención de establecer una guía práctica de campo que permita brindar una respuesta inmediata y coordinada a uno o varios varamientos simultáneos, así como para asegurarse de que se realiza una adecuada y completa colecta de información, una correcta preparación, toma y almacenaje de muestras, y una adecuada preparación de las mismas para su envío a laboratorios de diagnóstico.

Todas las fotografías del presente manual fueron tomadas dentro del marco del Programa y las Figuras son obra de la autora.



## AGRADECIMIENTOS

La colaboración y la información aportada por William McLean, Michael Moore, Darlene Ketten, Matías Di Martino, Carina Marón, Javier Millán y Lucas Beltramino fueron cruciales para el armado de este protocolo.

La información recogida durante los 10 años del PMSBFA no hubiese sido posible sin el inestimable apoyo de un sin número de voluntarios y el financiamiento aportado por diversas organizaciones y personas.

## CETÁCEOS

El nombre Cetacea proviene del griego κῆτος (ketos), "gran animal marino" y del latín -aceum, "relación o la naturaleza de algo". Los cetáceos (Cetacea) son un orden de mamíferos que viven exclusivamente en ambientes acuáticos, no necesitando de tierra firme para parir. Se divide en dos grandes grupos o subórdenes: Mysticeti (deriva del griego mystax=bigote y cetus=cetáceo, es decir, cetáceos barbados) que se alimentan filtrando el alimento del agua y Odontoceti (deriva del griego odonto=diente) que se alimentan cazando.



## CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS CETÁCEOS

De cuerpo fusiforme, se encuentran perfectamente adaptados al medio acuático. No poseen extremidades posteriores y las anteriores se hallan transformadas en aletas. El cuerpo termina en una sola aleta caudal de disposición horizontal. Presentan un característico alargamiento del cráneo y una migración de la cavidad respiratoria hacia la parte superior de la cabeza. Los mysticetos poseen 2 espiráculos, mientras que los odontocetos solo uno. La piel está desprovista de pelos (excepto algunos pelos en la región del mentón y el hocico de algunas especies, como por ejemplo la ballena franca), y debajo de ésta existe una gruesa capa de grasa. No poseen orejas (pabellón auricular externo) y los ojos son pequeños. Las costillas son libres (no unidas ventralmente al esternón), lo que les permite una gran plasticidad del volumen pulmonar. Los machos poseen los testículos en el interior del abdomen. En general tienen un gran repertorio vocal. Los mysticetos usan el sonido principalmente para comunicarse entre ellos; pero los odontocetos emplean adicionalmente la gama de frecuencias altas a modo de sónar.

## CONSERVACIÓN

Muchas especies de cetáceos han sido sobre-explotadas, y hoy se encuentran en peligro de extinción. Durante siglos, los cetáceos fueron cazados para obtener diferentes productos, como aceite de ballena, grasa, espermaceti, barbas, ámbar gris y carne, entre otros. La Convención Internacional para la Regulación de la Caza de Ballenas, en vigencia desde 1948, regula la explotación de cetáceos, y es administrada por la Comisión Ballenera Internacional (CBI, <http://iwc.int/convention.htm>). A causa del descenso en sus poblaciones, en 1986 se estableció una moratoria que prohíbe su caza comercial. No obstante, se permite a ciertas comunidades continuar con la cacería de subsistencia y caza de ciertas especies de ballenas con fines científicos.

## LA BALLENA FRANCA AUSTRAL

La familia Balaenidae se divide en 2 géneros y 4 especies. El género *Balaena*, con una sola especie, *Balaena mysticetus* (Ballena de Groenlandia) y el género *Eubalaena* con 3 especies:

- *Eubalaena australis* (Ballena franca austral)
- *Eubalaena glacialis* (Ballena franca del Norte)
- *Eubalaena japonica* (Ballena franca del Pacífico)

El nombre científico de la ballena franca austral proviene del griego “EU” (verdadera), “BALAENA” (ballena) y del latín “AUSTRALIS” (sur). Debido a su nado lento, su flotabilidad una vez muerta y el alto rendimiento en aceite de su cuerpo (unos 7200 litros de aceite), en siglos pasados se la consideró la ballena “correcta” para cazar, lo que le valió el nombre en inglés de Right Whale. En su traducción al español se usó la variante léxica de right = franca.

### Clasificación científica

Reino: Animalia  
 Filo: Chordata  
 Clase: Mammalia  
 Orden: Cetacea  
 Suborden: Mysticeti  
 Familia: Balaenidae  
 Género: ***Eubalaena***  
 Especie: ***australis***

### CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA BALLENA FRANCA AUSTRAL

La ballena franca austral posee cuerpo alargado y robusto. Su piel es lisa, elástica y de color gris oscuro a negro. Algunas poseen manchas blancas principalmente en el área umbilical. Estos animales al adaptarse a la vida marina han perdido su cobertura pilosa (que tenía su antepasado terrestre) aunque no totalmente. Actualmente presentan algunos pelos en la zona del mentón. La cabeza ocupa entre el 15-20% del largo total del cuerpo dependiendo de la clase de edad y no poseen aleta dorsal. Cuando exhalan por los 2 espiráculos, el agua sale en forma de “V”, pudiendo llegar hasta 5 metros de altura. Su longitud promedia los 13-15 metros para el macho y alrededor de los 17 metros para la hembra. Su peso adulto oscila entre 40-80 toneladas. Presentan callosidades situadas en distintas partes de la cabeza, en donde viven densas poblaciones de pequeños crustáceos anfípodos llamados ciámidos, que se intercalan con otro tipo de crustáceo, los cirripedios, los cuales hacen que las callosidades luzcan blancas, amarillas, anaranjadas o rosa claro. Las callosidades se asemejan a las huellas dactilares pues los patrones de las mismas son únicos en cada individuo. Dentro de su boca de forma curva, la mandíbula superior sostiene unas 260 barbas córneas que sirven para filtrar su alimento. Se alimenta principalmente de crustáceos como el krill y los copépodos. La gestación dura unos 12 meses y las crías miden al nacer entre 3 y 6 metros de largo. La mayoría de ellas nace con tonalidad de gris oscuro

a negro, aunque algunas tienen una mancha blanca en la región umbilical. Un porcentaje menor de crías nacen con piel blanca y a medida que crecen va cambiando su color a gris oscuro. La lactancia dura el mismo tiempo que la gestación (1 año), y luego del destete, la cría se separa de la madre ya que son animales solitarios.



## DISTRIBUCIÓN Y SITUACIÓN ACTUAL

La ballena franca del Atlántico norte habita la costa este de los Estados Unidos. La ballena franca del Pacífico norte habita una amplia franja que va de los 20° a los 60° de latitud norte en el océano Pacífico. Por su parte, la ballena franca austral se distribuye en el hemisferio sur hacia el sur de los 20° en los océanos Atlántico, Pacífico e Índico (Figura 1). Las especies del hemisferio norte y la especie austral no entran en contacto ya que no sobrepasan las aguas de la zona ecuatorial. La caza indiscriminada puso a este género en peligro de extinción reduciendo su población original hasta en un 90 %. Actualmente se estima que la población mundial de ballena franca austral es de 12.000 individuos ((IWC 2001, IWC 2012).

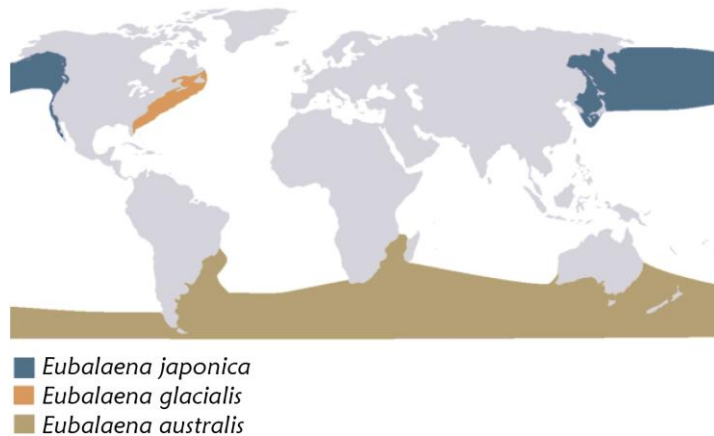


Figura 1. Distribución espacial de la ballena franca. Fuente: Wikipedia.

Las ballenas francas del hemisferio norte (Atlántico y Pacífico) se encuentran “en peligro”, y la subpoblación de ballena franca austral de Chile y Perú está considerada “en peligro crítico” (IUCN 2013).

La **ballena franca austral** se reproduce en aguas templadas durante el invierno y la primavera, y el resto del tiempo permanece en aguas más australes alimentándose. Según la CBI (2001), en épocas reproductivas las ballenas se reúnen en la costa este y oeste de América del Sur (Argentina, Brasil y Uruguay), sur de África, Nueva Zelanda y Australia. Hasta el año 2000 la tasa de mortalidad documentada en Península Valdés aumentó de manera similar a la tasa de crecimiento de la población (6.9% anual, Cooke et al. 2003). Pero en los últimos años se ha documentado un número extremadamente alto de ballenas muertas. Entre 2003 y 2013 murieron al menos 672 ballenas francas en las costas de Península Valdés, la mayoría de ellas crías (611 ejemplares= 91%), siendo la mortandad más elevada que se ha registrado para la especie en todo el mundo. El aumento observado en la tasa de mortalidad de crías es mayor a la tasa de crecimiento poblacional estimada para el mismo período. De este modo, un modelo demográfico preliminar presentado ante la CBI (Panamá, junio 2012) estimó una reducción en el crecimiento de la población de 6.9 a 5.1 % anual en la última década (Cooke 2012). Estos datos sugieren que la población de BFA de Valdés y su ecosistema podrían ser menos robustos de lo que se pensaba.

Según la lista roja de la UICN (<http://www.iucnredlist.org/details/8153/00>), la BFA pertenece a la categoría de bajo riesgo, excepto la sub-población de Chile y Perú que se encuentra en estado crítico de extinción.



## PROGRAMA DE MONITOREO SANITARIO DE LA BALLENA FRANCA AUSTRAL

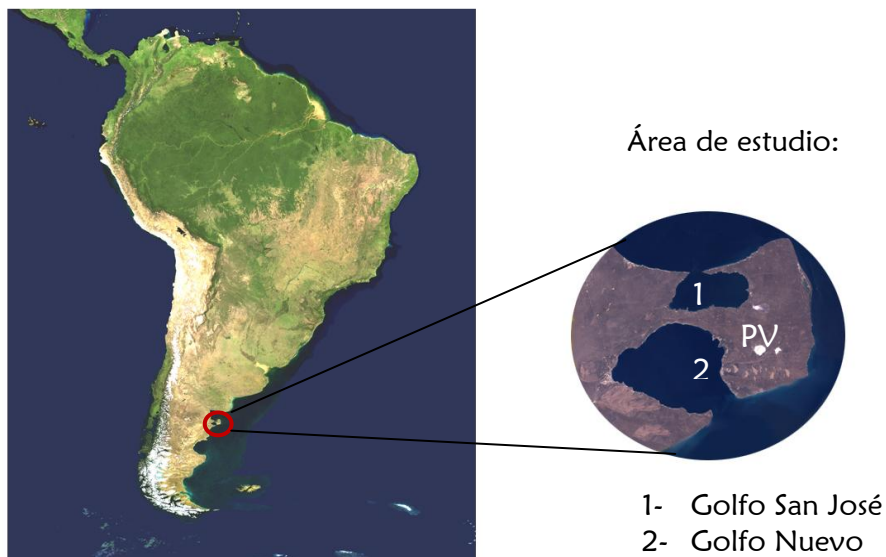
En el año 2003, las ONGs Wildlife Conservation Society (WCS) y el Instituto de Conservación de Ballenas (ICB) / Whale Conservation Institute (WCI) fundaron el Programa de Monitoreo Sanitario de la Ballena Franca Austral (PMSBFA) en la

Península Valdés (PV), provincia Chubut, Argentina (*Figura 2*). Posteriormente se sumaron las organizaciones locales Fundación Patagonia Natural (FPN) y Fundación Ecocentro. Actualmente lo llevan a delante la WCS, ICB/WCI, FPN, y las Universidades de California, Davis y Utah.

La población de ballenas francas que visita anualmente PV es una de las más grandes del mundo (unos 3400 individuos, IWC 2012) y utiliza estas zonas como área de cría y reproducción durante los meses de mayo a diciembre. Debido a las características topográficas y oceanográficas de las playas de PV, como son sus pendientes leves y sus grandes amplitudes de marea, es frecuente el hallazgo de ballenas muertas varadas en las costas de ambos golfos, el Golfo Nuevo y el Golfo San José. Esto hace de PV un lugar excepcional y único en el mundo para la evaluación del estado sanitario de la especie.

### El objetivo del PMSBFA es contribuir a la conservación de la BFA a través de:

- la documentación de mortalidades en PV y sus alrededores durante la temporada de cría.
- la colecta de información científica para determinar causas de muerte, y contribuir a incrementar nuestro conocimiento sobre la biología, ecología y susceptibilidad a enfermedades.
- aumentar la participación y compromiso de entidades gubernamentales y no gubernamentales, estudiantes, y la comunidad local.



*Figura 2. Imagen satelital del área de estudio del PMSBFA en Argentina.*



## Causas de varamientos

Cuando una ballena muerta o viva nada o flota hacia la costa y se encalla y es incapaz de regresar al mar, el evento se denomina “varamiento” (Geraci et al. 1999). Se han descripto varias causas por las que uno o más cetáceos se varan en las costas. Entre las reportadas con mayor frecuencia se encuentran las enfermedades infecciosas (causadas por virus, bacterias y hongos), malnutrición, intoxicación por biotoxinas producidas por floraciones de algas nocivas, contaminantes ambientales y traumatismos (impacto con embarcaciones, ataques por depredadores, etc.). Una mortalidad inusual se considera según el "Marine Mammal Protection Act" (<http://www.nmfs.noaa.gov/pr/laws/mmpa/>) como al varamiento inesperado, que implica una significativa mortandad de cualquier población de mamíferos marinos, y que exige una respuesta inmediata. Las causas de mortalidades inusuales en cetáceos, sus factores predisponentes y los efectos en la población afectada sólo han sido estudiadas en una pequeña fracción de casos (Geraci & Lounsbury 2005, Dierauf & Gulland 2001).

Durante sus 11 años de trabajo continuo el Programa ha ido adquiriendo importancia y reconocimiento tanto a nivel local como internacional, convirtiéndose en una herramienta esencial para monitorear el estado de la población de BFA de PV. Mientras que el número de ballenas muertas registradas anualmente en PV ha sido muy variable, la mortalidad registrada desde el 2007 es inusualmente elevada y preocupante (Rowntree et al., 2013). En particular, en el año 2012 murieron 116 ballenas, lo cual representa el número de ballenas muertas en una temporada más alto jamás registrado para esta especie en el mundo. Hasta el momento se desconocen las causas específicas de dicha mortalidad, aunque se trabaja sobre cuatro hipótesis principales: 1- Enfermedades infecciosas; 2- Biotoxinas; 3- Malnutrición; 4- Lesiones y acoso por gaviotas, siendo las hipótesis 3 y 4 sobre las que actualmente se focalizan muchos análisis.

## Permisos de investigación

El PMSBFA opera cada año durante el tiempo que las BFA permanecen en PV, entre el 15 de junio y el 15 de diciembre. Se requiere de permisos de entidades gubernamentales provinciales para poder realizar actividades de investigación que involucren a especies de la fauna en la provincia de Chubut. Por lo tanto, para poder realizar la necropsia y toma de muestras de ballenas francas varadas muertas en PV, el proyecto debe ser primero aprobado por la Dirección de Fauna y Flora Silvestres (DFyFs, <http://organismos.chubut.gov.ar/fauna/>, [dfyfschubut@gmail.com](mailto:dfyfschubut@gmail.com)) y Dirección General de Conservación de Áreas Protegidas, Subsecretaría de Turismo y Áreas Protegidas (<http://www.chubutpatagonia.gob.ar>). Los documentos necesarios para la gestión de los permisos de investigación se encuentran en el ANEXO 1. Se requiere de un mínimo de 3 meses para gestionar los permisos previos a cada temporada de ballenas y es necesario renovarlos cada año. Antes de enviar la solicitud se debe seleccionar a los voluntarios que van a participar en el PMSBFA para incluirlos en los permisos de investigación. Los voluntarios son generalmente estudiantes de biología o veterinaria, y se seleccionan preferentemente aquellos con experiencia previa.

## SALUD HUMANA Y SEGURIDAD PERSONAL

**Riesgos biológicos.** En los cadáveres de mamíferos marinos pueden estar presentes organismos zoonóticos perjudiciales para la salud humana, por lo que durante el manejo de



Figura 3. Cinta de peligro alrededor de una cría varada muerta.

(Figura 3). Esto también sirve para que los curiosos no interfieran durante la actividad forense, durante la cual, además, se manejan cuchillos, bisturíes y otros elementos cortopunzantes, con el peligro que esto entraña.

Todos los integrantes del Programa (incluyendo los voluntarios) deben tener seguro médico, de accidentes personales y estar vacunados contra el tétanos.

Los encargados de realizar la necropsia (veterinario y técnico capacitado del Programa) deben usar guantes descartables (de látex de examinación y gruesos tipo de cocina), mascarilla, anteojos, ropa impermeable (waders de pesca), trajes de neopreno (según corresponda) y botas de goma para evitar el riesgo de contaminación (Figura 4). Cualquier herida existente en la piel debe ser cubierta antes de realizar la necropsia y cualquier herida causada durante la necropsia debe de ser rápidamente higienizada y atendida. No debe olvidarse nunca el kit de primeros auxilios (ver ANEXO 2). Si se requiere de atención profesional se debe ir al hospital cuanto antes. Se debe tener mucho cuidado con el manejo de los cuchillos y ganchos, coordinar cada movimiento mientras se estén usando y avisar al compañero cuando se vaya a mover de lugar. Se debe tener siempre recipientes adecuados para desechar hojas de bisturí, agujas y elementos cortantes.

Al finalizar la necropsia, se recomienda limpiar todo el instrumental, waders y botas en el lugar del evento, usando cepillos y el agua de mar con detergente biodegradable para luego repetir el procedimiento al regresar del campo y terminar de desinfectarlo con hipoclorito de sodio (lavandina).

Cualquier cadáver que pueda suponer un riesgo para la salud pública o de los animales debería ser enterrado o incinerado. Debido a que la mayoría de los varamientos se producen en lugares remotos y no turísticos,

los cadáveres y sus tejidos deben ser tenidas en cuenta ciertas medidas de seguridad del personal responsable de la necropsia y del público.

Para evitar que el público se acerque y toque las ballenas muertas, se deben colocar cintas de “peligro” delimitando un perímetro de unos 3 metros alrededor del animal



Figura 4. Vestimenta utilizada para realizar una necropsia.

por motivos logísticos y al propio tamaño de las ballenas francas, el cuerpo del animal diseccionado se deja en el lugar del varamiento, ya que no se pueden mover o enterrar. En caso de vararse en playas públicas (playa de Puerto Madryn y Pirámides y otras ubicadas sobre el Golfo Nuevo), se debe coordinar con la Dirección de Fauna y Flora de la provincia y los municipios respectivos para que Prefectura Naval Argentina traslade al individuo intacto a una playa alejada para poder realizar el estudio forense. En estos casos, para realizar el traslado del cadáver por agua es necesario atar el pedúnculo caudal de la ballena a una soga y asegurarla a una embarcación adecuada para el remolque del individuo hasta el lugar indicado. Es indispensable realizar esta maniobra con marea alta.

**Riesgos químicos.** Se debe manipular con extremo cuidado la formalina (conservante tóxico y potencialmente cancerígeno). Se debe transportar siempre en envases herméticos y dentro de una bolsa hermética tipo ziploc. Usar siempre guantes y mascarillas de protección y trabajar en áreas ventiladas. En la página 63 se describe el método apropiado para descartar la formalina.

**Riesgos físicos.** Se recomienda usar muñequeras y faja lumbar para la propia salud personal (Figura 4). Con respecto al vehículo utilizado por el PMSBFA, antes de iniciar la temporada de ballenas debe ser llevado al mecánico para una revisión completa. Antes de cada salida al campo se debe comprobar los niveles de aceite, la presión de los neumáticos (inclusive la de auxilio) y que el tanque de combustible esté lleno. Toda persona que se suba al vehículo del Programa debe estar asegurada.

## EQUIPO DE NECROPSIA

### 1) MATERIAL DE NECROPSIA

Cuando se trabaja en condiciones de campo, en donde la mayoría de las veces para llegar al lugar de varamiento hay que recorrer distancias muy largas caminando, lo recomendable es llevar el menor peso posible (Fotos 1 y 2). El material de necropsia consta de 2 mochilas grandes de 60-80 litros cada una. Una se destina a los materiales de toma de muestras y la otra a los waders, botas y elementos de limpieza (“mochila sucia”); una mochila chica (para las planillas, útiles, GPS y cámaras de fotos); el instrumental (cuchillos, ganchos, gubias, etc.), que se lleva dentro de una caja o, lo que es más práctico, en el interior de uno o dos tubos de PVC con tapas; y las conservadoras. En caso de que el varamiento se encuentre cerca de la camioneta se puede disponer de más materiales, como baldes, varillas para la cinta de peligro, serrucho, repuesto de material y vestimenta, caja de herramientas, mantas, bidones de agua, malacate, cabos, trajes de neopreno, centrífuga, tanque de nitrógeno pequeño, etc. (Ver listado completo en ANEXO 3).



Foto 1. Relevando las costas con el equipo de necropsia.



Foto 2. Caminando con el equipo de necropsia hacia un varamiento.

**a) Materiales dentro de la mochila de toma de muestras (Foto 3):**

Se recomienda evitar los *tuppers* o recipientes para guardar los materiales, usando en su lugar bolsas tipo zip-loc para maximizar el espacio disponible y además protegerlos del agua (Foto 4). Todos los conservantes líquidos deben ir en envases herméticos, plásticos, con tapa a rosca y luego dentro de una bolsa zip-loc y/o envolver la tapa con parafilm para evitar pérdidas. Siempre se debe tener suficiente material para al menos 4 animales. Todos los materiales usados en un varamiento se reponen al final de ese mismo día para que se encuentren listos para el próximo.



Foto 3. Sacando bolsas con materiales de la mochila de toma de muestras.

**LISTADO:**

**PROTECCION PERSONAL**

- Gorros
- Anteojos protectores
- Guantes de tacto rectal
- Guantes de látex grueso tipo "cocina" chicos, medianos y grandes
- Guates de látex de exanimación chicos, medianos y grandes
- Mascarillas
- Muñequeras y fajas para seguridad personal
- Cintas de embalar, *silver tape* o cinta americana para sellar el espacio entre el guante de tacto rectal y el guante de cocina y el guante de tacto rectal a las mangas. (ver Figura 4), cinta de peligro
- Kit de primeros auxilios (ver ANEXO 2)
- Papel, toallitas húmedas y algodón
- Alcohol en gel

**CONSERVANTES**

- Envases herméticos con formol al 10% y 40%
- Envase hermético con alcohol 96%
- Envase hermético con metanol
- Viales Eppendorf con RNAlater

**COLECTA DE MUESTRAS**

- Frascos de 40 y 250 ml
- Frascos estériles de 40 ml
- Tubos de ensayo secos de 10 ml tipo Vacutainer™
- Tubos de ensayo para suero de 10 ml tipo Vacutainer™ (con y sin gel separador)
- Crioviales de 5 ml
- Viales con RNAlater
- Bolsas zip-loc chicas, medianas y grandes
- *Whirlpacks* (bolsas estériles para nitrógeno líquido)
- Bolsas medianas y grandes (de consorcio)

- Hisopos con medio Stuart
- Hisopos estériles secos (sin medio)
- Agujas 21 G, 18 G, agujas espinales 18G
- Jeringas de 5 y 10 ml
- Hojas de bisturí
- Tubos con EDTA
- Heparina
- Portaobjetos
- Tiras reactivas “Multistick” para orina, tiras para detectar cuerpos cetónicos
- Tarjetas Whatman FTA o Protein Saver 903 y papel filtro para sangre
- Gradilla para tubos
- Caja para portaobjetos

### b) Materiales dentro de mochila “sucia”

Todos los materiales de esta mochila se colocan dentro de bolsas y luego de ser utilizados en el campo se guardan tras el primer lavado en el mar (Foto 5). Se vuelven a lavar y desinfectar al regresar (con agua, detergente y lavandina).

- 2 ó 4 Waders (2 con botas incluidas)
- 2 pares de botas
- Bolsas de consorcio y de residuos
- Detergente biodegradable
- Cepillos
- Maza de madera



Foto 5. Materiales “sucios” de necropsia.

### MATERIALES PARA IDENTIFICACIÓN

- Alambre y alicata
- Precintos grandes y caravanas
- Rotulador indeleble y lápiz

### OTROS

- Manta impermeable
- Rollo de hilo de polipropileno retorcido
- Hilo de nylon 50 mm
- Descartador de material punzo cortante (agujas y hojas de bisturí)



Foto 4. Materiales de necropsia en bolsa zip-locs.

- Tabla para cortar
- Cinta métrica de 50 metros
- Pala
- Hacha
- Costótomo

### c) Mochila chica

Se utiliza una mochila chica para planillas, útiles y aparatos electrónicos. Se deben tener las pilas/baterías cargadas previamente y llevar varias de repuesto.

- Planillas de necropsia en carpeta impermeable. Llevar para 5 ó más individuos.

- Lápices, lapiceras, marcador indeleble, marcador para crioviales y whirlpacks, goma, sacapuntas, tijeras
- Regla de 30 cm
- Cámara de Fotos
- GPS
- Pilas o batería de repuesto para cámara o GPS
- Binoculares y monocular
- Cuaderno o libreta

#### d) Tubo de PVC

Para guardar elementos punzantes y peligrosos como el equipo utilizado en la necropsia (Foto 6).

- Cuchillos de acero inoxidable de diferentes tamaños
- Gubias
- Ganchos de pesca de diferentes tamaños
- Tijeras
- Mango de bisturí
- Pinzas con diente de ratón
- Pinzas de mano izquierda
- Chairas y otros afiladores
- Regla metálica de 50 cm



Foto 6. Instrumental de necropsia peligroso.

#### e) Conservadoras

Deben llevarse dos o tres conservadoras con sus correspondientes geles refrigerantes. Cuando se estén realizando necropsias en época estival, deben dejarse siempre a la sombra o debajo de las mochilas en caso de que no la haya. Debe comprobarse que queden siempre bien cerradas para conservar el frío el mayor tiempo posible (Foto 7). Se deben cerrar bien las bolsas herméticas para evitar que se ensucie la conservadora y las bolsas ziplocs. Conviene dejar estas bolsas sin aire para maximizar el espacio.



Foto 7. Conservadoras para almacenaje de las muestras.

## 2) PERSONAL DE NECROPSIA Y TAREAS ASIGNADAS

Como el PMSBFA posee solo una camioneta en donde caben 4 personas, generalmente son 4 las personas involucradas en una necropsia. Si el varamiento ocurre en un lugar de fácil acceso y cerca de la ciudad de Puerto Madryn o Puerto Pirámides, se puede coordinar para que participen más voluntarios para maximizar el tiempo. Los roles principales en un equipo de necropsia son:

- **Planillero:** uno o dos encargado/s de registrar toda la información en la planilla de necropsia, rotular las muestras cuando las recibe y alcanzar los envases cuando se solicitan.
- **Fotógrafo:** uno o dos encargado/s de tomar las fotografías y registrar fotográficamente todo, tanto lo aparentemente normal como lo anormal.
- **Responsables de la necropsia:** dos (máximo 3) encargados de realizar la necropsia propiamente dicha y de la toma de muestras en una cría de ballena franca.

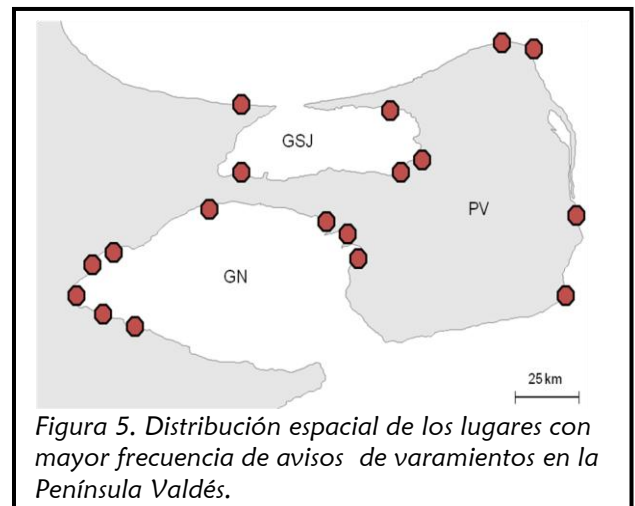
Todos los roles son fundamentales y necesarios para llevar a cabo una necropsia organizada y fructífera, y cada persona que asume un rol debe procurar desarrollarlo de la mejor manera posible.

## METODOLOGÍA DE CAMPO

Se describen a continuación todos los pasos a seguir cuando se reporta o encuentra una ballena varada muerta en la playa.

1. La actividad empieza en cuanto se recibe un llamado de un informante voluntario (IV) o se detecta un varamiento durante un relevamiento aéreo o terrestre. En caso de recibir un llamado se debe reunir la siguiente información:

- Lugar del varamiento (coordenadas o nombre del lugar)
- Si la ballena encontrada está viva o muerta. En caso de encontrarse viva avisar a la Red de Fauna Costera (RFC).
- Color de la piel y textura, que da una estimación de su estado de descomposición
- Si el cadáver tiene forma redondeada o si está aplastado (como indicativo de su estado de descomposición)
- Si se trata de un varamiento único o múltiple
- Medidas aproximadas o si parece adulto o cría
- Teléfono y nombre del contacto



La red de IVs está integrada por guardafaunas, pescadores, pobladores locales, personal de empresas de avistamiento de ballenas, de buceo y de turismo, guías, navegantes, aviadores, marisqueros, investigadores, ONGs y autoridades locales como la Prefectura Naval Argentina que se encuentran distribuidos alrededor de la península (ver Figura 5). Esta red es un elemento esencial para el éxito del PMSBFA, ya que una gran proporción de los animales encontrados en la playa son reportados por algún miembro de la misma.

Los relevamientos pueden ser terrestres (con camioneta, a pie o en cuatriciclo) o aéreos. Los vuelos presentan la ventaja de recorrer en poco tiempo la totalidad del perímetro costero (497 km), mientras que con los terrestres muchas zonas quedan sin relevar debido a que dentro de la Península Valdés hay lugares inaccesibles por tierra. Desde 2006 el Aeroclub de Puerto Madryn colabora con el PMSBFA para los relevamientos aéreos, los cuales se han sistematizado desde 2009, realizándose cada 15 días en función de las condiciones climáticas.

**2.** Antes de partir al sitio del varamiento se debe chequear la tabla de mareas y el pronóstico del clima.

Se recomienda imprimir la tabla de mareas cada 3 meses y tener una copia en la camioneta y otra junto a la planilla de necropsia. Para consultar e imprimir las mareas del golfo San José y el golfo Nuevo conviene visitar [http://www.hidro.gob.ar/oceanografia/tmareas/form\\_tmareas.asp](http://www.hidro.gob.ar/oceanografia/tmareas/form_tmareas.asp). Este es un dato muy importante a tener en cuenta, ya que las mareas limitarán el tiempo para trabajar sobre el animal. Una característica distintiva de las playas de Península es la gran amplitud de sus mareas. En particular, en el golfo San José (Fondeadero San Román) la amplitud media es de 5.8 m (con máximas de más de 8.7 m) y en el golfo Nuevo (Puerto Madryn) la amplitud media es de 3.8 m (con máximas superiores a los 5.7 m). Además la geometría de la costa hace que el desfase de la onda de marea entre ambos golfos sea de aproximadamente 4 horas. Entre pleamar (marea más alta) y bajamar (más baja) pasan 6 horas. Se debe tener cuidado en los días de luna llena y luna nueva, pues el efecto de las mareas es mayor (mareas extraordinarias). Los acantilados comprenden la mayor extensión de la costa (muchos con pendientes verticales de hasta 50 metros) y muchas zonas tiene poca costa en bajamar, por lo que hay que tener en cuenta que el agua puede subir en pocos minutos, y el equipo de trabajo podría quedar atrapado. Es recomendable conocer la topografía del terreno para evitar accidentes o ir acompañado por alguien que conozca la zona.

Por otro lado, es necesario saber si va a llover para cargar el equipo de lluvia y porque los caminos de tierra pueden estar intransitables (especialmente los de Punta Norte y Delgada). También es importante conocer la dirección y velocidad del viento, ya que si se reporta una ballena muerta flotando se podrá inferir qué dirección tomar. Se recomienda utilizar las siguientes aplicaciones on-line: NOAA (<http://ready.arl.noaa.gov/READYcmet.php>), para el que se requiere saber las coordenadas en decimales para poder utilizar esta página web o WINDGURU (<http://www.windguru.cz/cat/index.php?sc=38834>).

**3.** Llamar a voluntarios.

**4.** Retirar el material del depósito y cargarlo en el vehículo. El material debe quedar preparado cada vez que se concluye con la asistencia a un varamiento. Si se reporta un individuo a últimas horas de la tarde y la necropsia se va a realizar al día siguiente, es recomendable tener todo listo el día previo (cargar el equipo de necropsia, verificar la presión de los neumáticos, combustible, comprar bebidas y comida para las personas involucradas). Es común que por los horarios de las mareas y las temperaturas (particularmente hacia el final de la temporada) se priorice trabajar desde bien temprano por la mañana.

**5.** Dirigirse al varamiento y seguir el **Protocolo de Necropsia** (descrito en *Página 16*).



6. Almacenar las muestras tomadas al regresar del campo (reemplazar formol usado en las muestras con formol “limpio”). Revisar los rótulos nuevamente y que los envases estén bien cerrados.
7. Lavar equipo (instrumental, waders y botas) con agua y detergente. Posteriormente sumergir el instrumental una media hora en lavandina (una parte de lavandina concentrada en 20 de agua o 5g de NaClO/lit) y luego secar. Reponer el material utilizado y poner todo el equipo en el cajón de la camioneta, de manera que esté listo para un próximo varamiento.
8. Revisar y terminar de completar la planilla de necropsia para luego actualizar digitalmente la base de datos con cada varamiento, especialmente:
  - **Planilla de Inventario:** en ella se encuentran listadas todas las muestras tomadas y enviadas a distintos laboratorios desde el inicio del Programa. Se encuentra organizada según el medio de conservación: muestras en freezer a -20° C, en nitrógeno líquido, en formol, sin medio de conservación, muestras en RNAlater, en alcohol, y otras muestras (por ejemplo extendidos de sangre o improntas).
  - **Planilla principal:** Incluye toda la información general, morfometría y medidas de grasa de todas las ballenas registradas desde el inicio del programa.
  - Descargar las **fotografías** tomadas en la computadora, guardándolas en una carpeta que lleve el número del varamiento. Nombrar cada fotografía con la identificación del animal y una descripción del órgano o lesión si esto no fuera aparente.

## PROTOCOLO DE NECROPSIA

### INTRODUCCIÓN

El principal objeto de las necropsias es determinar la causa de muerte. El examen forense de un cadáver genera una serie de observaciones generales macroscópicas que permiten establecer un diagnóstico diferencial de posibles procesos patológicos asociados al deceso del animal. Investigaciones posteriores, como los análisis histopatológicos o microbiológicos, ayudan a descartar o confirmar posibles agentes causales y aproximarse a un diagnóstico definitivo. Frecuentemente, esto no es posible debido a que una gran parte de las ballenas encontradas muertas en las costas de Península Valdés y sus alrededores se encuentra en avanzado estado de descomposición y el valor diagnóstico de las muestras colectadas en estos casos es limitado. De todos modos, el examen de los animales muertos y la colecta de muestras deben ser siempre exhaustivos y detallados. Aun cuando la causa de muerte no sea fácil de identificar, el valor de la información colectada de los animales muertos no debe de ser minimizado. El estudio sistemático de las ballenas varadas permite entre otras cosas, realizar un seguimiento de las tendencias poblacionales de la especie, aprender sobre nutrición, genética, biología, salud, etc.

El protocolo de necropsia se divide en **9 secciones:**

- I. Información general
- II. Fotografías
- III. Morfometría
- IV. Consideraciones generales sobre el examen
- V. Examen externo
- VI. Toma de muestras externas
- VII. Medidas del grosor de grasa
- VIII. Examen interno
- IX. Toma de muestras internas
- X. Almacenamiento de muestras en el campo

## I. INFORMACIÓN GENERAL

Una vez llegado al lugar del varamiento, lo primero que debe hacerse es vestirse con la ropa apropiada y descargar todo el equipo, dejándolo listo para efectuar la necropsia.

Antes de empezar con el examen externo el “planillero” registra toda la información general en la planilla de necropsia (ver planilla de INFORMACIÓN GENERAL utilizada por el PMSBFA en ANEXO 4). Esta información incluye:

- ❖ **Fecha:** es importante escribir el mes con letras para evitar confusiones del día y mes con los sistemas estadounidenses
- ❖ **Hora de inicio y finalización** de la necropsia
- ❖ Si el animal se encuentra **vivo o muerto** al llegar a la zona del evento
- ❖ El **sexo**. En ocasiones la disposición del cuerpo puede impedir definirlo mediante observación externa, siendo en estos casos necesarios esperar al examen interno para poder sexar al individuo mediante observación directa de las gónadas.
- ❖ La **clase de edad**: Se establecen 3 clases en función de las siguientes características:

	Tamaño	Características
<b>Crías</b>	Menos de 9 metros	La distancia entre hocico y espiráculo representa el 15-16% del largo total. Desde el nacimiento hasta el destete junto a la madre.
<b>Juveniles</b>	Entre 9-12 metros	La distancia entre hocico y espiráculo representa el 17-19% del largo total. Se considera juvenil desde el destete y separación de la madre hasta la edad reproductiva (5 años).
<b>Adultos</b>	Más de 12 metros	La distancia entre hocico y espiráculo representa más del 20% del largo total. A partir de los 5 años y comienzo de la actividad reproductiva.

El tamaño de la cabeza de las ballenas francas aumenta en relación con el largo total del cuerpo a medida que los individuos crecen. A modo de guía, el largo exterior de la cabeza (medido desde el extremo anterior del rostro hasta el centro de los espiráculos) representa aproximadamente el 15-16% del largo total del cuerpo (medido desde el extremo anterior del rostro hasta la escotadura de la aleta caudal) en las crías, el 17-19 % en los juveniles y el 20% o más en los adultos (Sironi, 2004, Sironi et al., 2005).

Dentro de la clase “crías” se establecen cuatro categorías en función a las siguientes características:

<b>Categoría</b>	<b>Edad</b>	<b>Características</b>	<b>Longitud total estimada</b>
<b>1</b>	0	Feto o mortinato: presencia de cordón umbilical fresco. Callosidades lisas y blandas. Islas rostrales redondeadas con pelos sensoriales centrales visibles. Zona redondeada y elevada del espiráculo. Espiráculos en forma de domo. Ausencia de ciámidos. Pulmón no flota en agua de mar. Piel suave, de consistencia blanda, no está tersa y generalmente de color grisáceo.	Menos de 5-6 metros
<b>2</b>	1-2 semanas	Neonato: Presencia de cordón umbilical fresco u ombligo abierto de color rojizo. Callosidades blandas pero empezando a ponerse más ásperas. Islas rostrales redondeadas con pelos sensoriales centrales. Zona redondeada y elevada del espiráculo. Espiráculos en forma de domo. Casi sin ciámidos. Pulmón flota en agua de mar. Piel suave, de consistencia blanda, lisa, generalmente de color gris oscuro.	Menos de 5-6 metros
<b>3</b>	1-2 meses	Ombligo de color blanquecino, zona central rosada, en proceso de cicatrización. Callosidades ásperas y duras, ciámidos naranjas en zona de mejillas, ombligo, zona urogenital y pliegues del cuerpo. Islas rostrales con pelos sensoriales centrales. Piel lisa, suave a ligeramente áspera de consistencia blanda, generalmente de color gris oscuro.	Entre 5 a 7 metros
<b>4</b>	4-6 meses	Ombligo cicatrizado, color blanquecino. Callosidades ásperas y duras, ciámidos blancos sobre callosidades. Ausencia de ciámidos naranjas en mejillas, se localizan sobretodo en callosidades. Islas rostrales poco visibles. Piel lisa, ligeramente áspera, semidura, generalmente de color gris oscuro a negro y de aspecto como el caucho, parecida a la piel de adultos.	Más de 7 metros

En algunas ocasiones resulta difícil definir la categoría de edad, especialmente en el caso de las crías. Se debe tener en cuenta que las crías nacen principalmente entre mayo y julio, con una longitud que varía de los 3 a los 6 metros, y tienen en promedio una tasa de crecimiento de  $2.8 \pm 0.7$  cm por día (Best & Rüther 1992). Por ello, si una cría ronda los 9

metros en esa época se debe considerar como cría del año anterior. En cambio, si nos encontramos a fin de temporada (noviembre a diciembre) con una cría de 9 metros, deberíamos considerarla nacida en la temporada. Por otra parte, se debe tener en cuenta que las crías de madres grandes nacen con una longitud mayor respecto a aquellas que nacen de madres pequeñas.

❖ **Condición al Varamiento** (condición externa) y **de necropsia** (condición interna): se refiere al estado de descomposición del cadáver, y se le asigna un código del 2 al 5 (Figura 6), correspondiendo la **condición 1** al animal vivo. De tal modo que:

- **Condición 2- CADAVER FRESCO:** apariencia normal; generalmente pocas lesiones por carroñeros; ausencia de olor a descomposición; piel levemente seca o arrugada; mucosas y ojos levemente secos; córnea transparente; ausencia de hinchazón por gases; lengua y pene sin protruir. Órganos internos intactos.
- **Condición 3- DESCOMPOSICIÓN MODERADA:** Cadáver intacto; hinchazón por gases evidente (lengua y pene protruidos); piel agrietada y desprendimiento en algunas zonas, posibles lesiones por carroñeros; mucosas secas; ojos hundidos o ausentes. La mayor parte de órganos internos con estructura conservada.
- **Condición 4- DESCOMPOSICION AVANZADA:** El cadáver puede estar intacto pero colapsado; piel agrietada, severos daños por carroñeros; fuerte olor; grasa y músculo se pueden desgarrar fácilmente; huesos se desprenden fácilmente; órganos internos licuefactos.
- **Condición 5- MOMIFICADO O RESTO DE ESQUELETO:** Cadáver desecado; restos de piel y huesos.









	Condición 2	Condición 3	Condición 4	Condición 5
Condición externa				
Condición interna				

Figura 6. Ejemplos de condición externa e interna en función del grado de descomposición.

Hay que tener en cuenta que muchas veces la condición externa del animal puede ser 2 ó 3 pero su interior se encuentra muy descompuesto, con condición de necropsia 4 (Foto 8 y 9). En raras ocasiones sucede lo contrario, en donde se le asigna un 4 de condición externa pero el interior se encuentra intacto, con condición 2 (Foto 10 y 11). Este último caso suele darse en crías chicas (de alrededor de 3 metros) que no presentaban piel y el grosor de grasa y músculo es muy delgado. La piel negra atrae más el calor y la grasa actúa como aislante, por

lo que el calor producido por el cuerpo no puede escapar, acelerando la autólisis de los órganos y tejidos internos. De este modo, los animales con menor grosor de grasa y sin piel tardan más en descomponerse que aquellos con mayor grosor de la capa de grasa.



Foto 8. Condición externa 2 en una cría parcialmente albina.

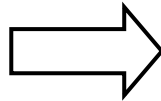


Foto 9. Condición interna 4.



Foto 10. Condición externa 4 en una cría sin piel.

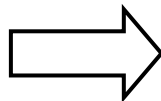


Foto 11. Condición interna 2.

- ❖ Indicar si fue **reportado** por un miembro de la red de informantes voluntarios o fue encontrado por **relevamiento aéreo o terrestre**. Indicar nombre del informante o institución y fechas.
- ❖ **Posición del cuerpo**. Si se encuentra de lateral, indicar si el lado que toca el suelo es el derecho o el izquierdo. Si el vientre está contra el suelo sería posición ventro-dorsal, mientras que si se encuentra el dorso contra el suelo sería dorso-ventral (ver Fotos 12-15). Hay otra opción denominada “otras” para el caso de que el cuerpo este enroscado.



Foto 12. Posición DORSO-VENTRAL



Foto 13. Posición VENTRO-DORSAL



Foto 14. Posición LATERAL DERECHA



Foto 15. Posición LATERAL IZQUIERDA

- ❖ **Nombre de la playa o el lugar.** (Los lugares con mayor frecuencia de varamientos se encuentran detallados en el mapa de la *Figura 7*).
- ❖ **Ubicación geográfica.** Indicar latitud y longitud. Así mismo, guardar el punto en el GPS por si hay algún error de lectura en la planilla (*Foto 16*).
- ❖ Se debe indicar si se le colocó o no una **caravana identificadora** y en qué lugar (*Foto 17*). A su vez se marca en la planilla si se le realizó alguna otra marca, como algún corte específico o muesca en caso que la caravana desaparezca. Debido a que el PMSBFA realiza relevamientos aéreos sistemáticos en busca de animales varados, es recomendable hacer una sección total o parcial de la aleta caudal para poder ver esa identificación en un sobrevuelo y evitar confusiones. Es común que desde el aire los animales ya necropsiados parezcan intactos debido a que las olas dan vuelta al cadáver, dejando expuesto el lado sin necropsiar.
- ❖ **Historia:** tanto para ballenas varadas vivas o muertas, registrar:
  - Condiciones ambientales antes y durante el momento del varamiento (si se conocen).
  - Comportamiento antes y durante el varamiento en caso de animales vivos.
  - Si se trata de un varamiento único o en masa.
  - Hora y fecha de muerte y de varamiento; en caso de animales ya encontrados muertos se pone una fecha estimada.



Foto 16. Anotando en la planilla el punto de GPS.



Foto 17. Sección parcial de una aleta caudal y caravana en la otra.



Figura 7: Mapa de Península Valdés que muestra en color verde las playas y lugares donde se varan con mayor frecuencia las ballenas y en amarillo las puntas geográficas.

- Topografía del lugar.
  - Presencia de algún indicio de interacción humana (lesiones causadas por actividades humanas, ver *Página 27*).
- ❖ Nombre de las personas a cargo y sus roles.

## II. FOTOGRAFÍAS

Las fotografías sirven como complemento visual a los registros escritos de cada parte examinada y son de suma importancia para los patólogos, ya que representan la evaluación macroscópica de una lesión que luego se complementa con la observación microscópica para su diagnóstico final. Por lo tanto, el rol del fotógrafo es fundamental. Su función comienza a la hora de arribar al varamiento, fotografiando de forma panorámica todos los lados del animal varado y todos sus partes externas de forma individual (espiráculo, globo ocular, boca, área umbilical, hendidura genital y ano) prestando especial atención a la posible presencia de lesiones debidas a interacción humana como marcas de enmalles, colisión con embarcaciones o algún otro evento traumáticos como también las lesiones causadas por gaviotas en la línea media dorsal del animal. Continúa luego tomando fotografías a medida que se van colectando las muestras externas e internas. Tiene que registrar todos los órganos y tejidos, tanto aquellos con apariencia anormal como normal. Debe tomar todas las fotos posibles, ya que muchas veces quedan mal encuadradas o el flash y las sombras pueden enmascarar lo que se trata de mostrar. Por lo tanto el trabajo de un fotógrafo no cesa hasta que se termine la necropsia. Siempre se debe usar una **unidad de medida o regla** en cada fotografía en la que se muestra un detalle (*Foto 18 y 19*). Se recomienda usar una hoja plastificada que incluya una medida de referencia y en la que además se pueda escribir con rotulador indeleble el órgano o tejido que está fotografiando.



Foto 18. Moneda como unidad de medida.



Foto 19. Regla como unidad de medida.

## III. MORFOMETRÍA

Los datos morfométricos brindan información que permite estimar la edad, las tasas de crecimiento, estado reproductivo y los procesos de enfermedad en las poblaciones de ballenas. Todas las medidas corporales se toman de forma **rectilínea** (no tomar contornos) y en metros, excepto las mediciones de grasa que se toma en centímetros. Para el caso de medidas que van de trompa inferior hacia caudal



Foto 20. Realizando mediciones externas a una cría varada muerta.



(ver la planilla de morfometría usada por el PMSBFA en ANEXO 5) es recomendable fijar el extremo de la cinta métrica al gancho de necropsia y luego fijar el gancho en la arena. Una persona debe permanecer parada en ese lugar hasta terminar con las medidas, y de este modo se obtienen datos precisos (ver Foto 20).

## IV. EXAMEN : CONSIDERACIONES GENERALES

Una parte importante de la necropsia es la descripción de las lesiones. Debe tenerse en cuenta que no todos los hallazgos encontrados pueden constituir una lesión, es decir, que no suponen cambios anormales de la estructura. Es común que, por falta de experiencia, un principiante confunda lesiones con cambios fisiológicos (como la congestión hipostática o hipostasis cadavérica en partes declive por gravitación sanguínea), con características normales de la especie (como por ejemplo, los bazos accesorios o ausencia de vesícula biliar), o con artefactos y cambios post-mortem (asociados a la descomposición del cadáver, como por ejemplo la maceración y desprendimiento de las mucosas o el meteorismo causado por el metabolismo bacteriano).

### ❖ Cambios post-mortem

Los cambios tempranos post-mortem comprenden:

- La **rigidez cadavérica** o **rigor mortis**, se corresponde con el endurecimiento gradual y simultáneo de toda la musculatura esquelética; empieza a evidenciarse entre una y seis horas en los músculos pequeños de la cara y posteriormente en las extremidades. Se completa alrededor de las doce horas, fijándose por unas 18 a 36 horas, y desaparece cuando se inicia la putrefacción. Se debe a la acidosis muscular (acidosis láctica) que sigue a la falta de oxigenación tisular lo que da origen a una solidificación de las proteínas del músculo. El frío retarda la reacción en tanto que el calor la acelera. Es muy difícil evaluar la rigidez en los grandes cetáceos por la forma de cuerpo, y además lo único que se puede mover manualmente son las aletas pectorales y la aleta caudal que de por sí son rígidas. El rigor muscular empuja la sangre periférica a la región central, inyectando órganos de sangre como el pulmón o hígado, por lo que debería tenerse en cuenta al momento de evaluar dichos órganos.
- La **hipóstasis** o **lividez cadavérica**, se refiere a la acumulación de la sangre en las áreas de declive del cuerpo debido al efecto de la gravedad, dejando áreas pálidas en donde la sangre se retira y áreas rojizas en donde la sangre se deposita. Externamente se puede apreciar este cambio en las mucosas orales y genitales. No se puede detectar este cambio en la piel debido al grosor de la misma y la coloración oscura. Los mismos cambios se pueden observar en el hígado, corazón, pulmón y riñón en donde las costillas u órganos adyacentes ejercen presión, ocasionando que dicha área esté más pálida que el resto.
- La **algidez** o **algor mortis**, es la reducción de la temperatura corporal tras la muerte del individuo y termina cuando se equilibran la temperatura ambiente y la cadavérica. Posteriormente aparece la autólisis, que con la ayuda de las bacterias se transforma en

putrefacción, conduciendo finalmente a la descomposición total y licuefacción de los tejidos.

### ❖ Ejemplos de hallazgos post-mortem

- **Presencia de sangre, líquido o espuma en el espiráculo:** Este artefacto puede deberse a la congestión nasal con la consiguiente ruptura de los vasos al momento de la muerte. Hay que diferenciarla de una hemorragia pulmonar asociada a neumonía, un proceso tumoral de las vías aéreas superiores o un verdadero edema debido a causas patológicas (enfermedad cardíaca por ejemplo).
- **Prolapso rectal, vaginal, ocular:** Son artefactos comunes debido a la distensión que causa el gas producido por las bacterias de descomposición del tracto gastrointestinal.
- **Segmentos hiperémicos de asas intestinales:** la ruptura de los vasos intestinales ocasiona zonas o segmentos hiperémicos en la mucosa de los intestinos, y hay que diferenciarla de un proceso patológico, como una enteritis hemorrágica en donde se encuentra además necrosis, fibrina o edema.
- **Rupturas gástricas:** causadas por el ácido gástrico, habrá que diferenciarlas de las úlceras patológicas.
- **Enfisema, congestión y edema pulmonar:** uno de los cambios que suelen malinterpretarse es el enfisema alveolar e intersticial, que es un hallazgo post-mortem normal al menos que se acompañe con un historial de disnea. Lo mismo sucede con la congestión pulmonar (color rojizo y más pesado) y o con el edema (acumulación de líquido). Como regla general, si el pulmón no está firme, entonces no hay neumonía.

### ❖ Características principales a incluir en cada descripción de una lesión:

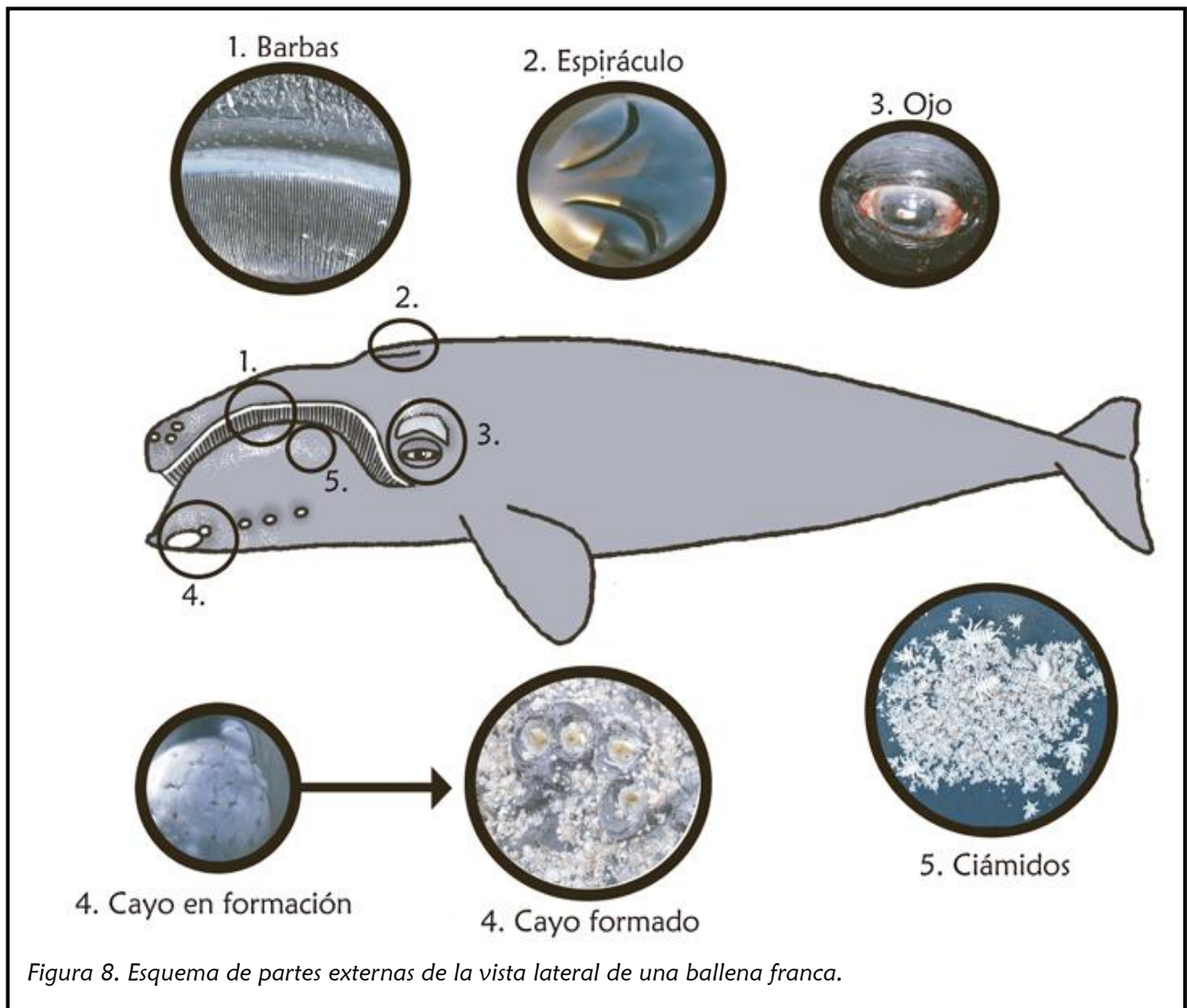
- **Ubicación:** describir la posición anatómica de la lesión y su relación con respecto a los demás tejidos (craneal, caudal, dorsal, ventral, a la izquierda o derecha de...). Incluso un dibujo a mano puede ser muy válido.
- **Color:** preferentemente usar los colores primarios con sus sombras correspondientes (más claro o más oscuro). Para dar un ejemplo, muchas personas no habrán visto nunca el “verde aceituna”. Usar términos como oscuro, brillante, moteado, vetado, etc.
- **Forma:** usar términos descriptivos como: ovoide, redondo, cónico, nodular, lobular, tortuoso, discoide, bulboso, fusiforme, laminado, plano, etc.
- **Tamaño:** deberían usarse sólo medidas métricas, siendo objetivo. Usar objetos estándar como unidad de medida en caso de no poseer una regla (una moneda, por ejemplo).

## V. EXAMEN EXTERNO

El examen externo completo de una ballena debe incluir una descripción detallada del estado de los ojos, cavidad bucal, espiráculo, piel, callos, ombligo o cordón umbilical, área genital y ano.

La *Figura 8* muestra la localización de las partes externas de una ballena, vista lateral. (Ver planilla usada por el PMSBFA en ANEXO 7).

Primero se realiza un minucioso examen externo en busca de cicatrices o heridas debidas a interacción humana (hélices, red de pesca, embarcaciones) y posteriormente se procede a la evaluación de cada una de las partes externas del animal, en busca de cualquier otro indicio que sugiera la causa de muerte.



### Tipos de lesiones externas (ver *Figura 9*):

- 1) **Impresión:** cuando deja una marca sin lesionar la piel.
- 2) **Abrasión:** herida superficial, afecta sólo las capas superficiales de la piel.
- 3) **Laceración:** afecta las partes más profundas de la piel y/o tejido graso y/o subcutáneo.
- 4) **Herida profunda:** cuando afecta a tejidos más profundos (músculo o cavidad abdominal).

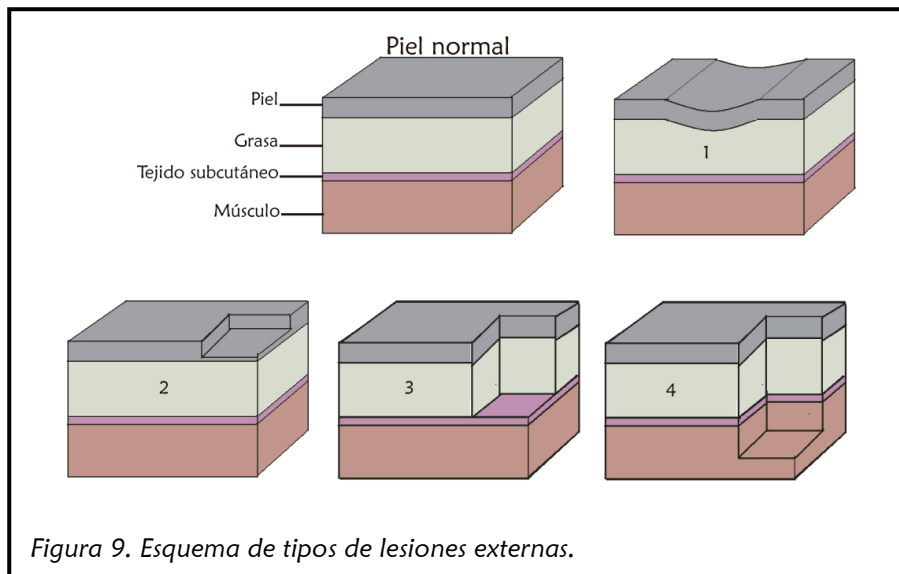


Figura 9. Esquema de tipos de lesiones externas.

### a) EVALUACIÓN DE INTERACCIÓN HUMANA

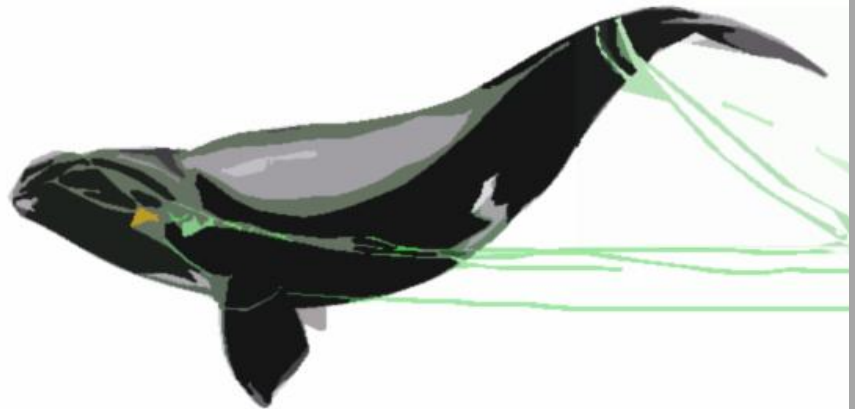
Para llevar a cabo la evaluación de interacción humana (IH) hay que desarrollar una rutina y seguirla en cada varamiento (ver planilla usada por el PMSBFA en ANEXO 8). En estos casos hay que ser conservador y objetivo al tratarse de un tema delicado y una especie emblemática. Hay que documentar absolutamente TODO, tanto en las planillas como con fotografías (no olvidar en ellas la unidad de medida y tomarlas desde todos los ángulos y de forma oblicua). Es mejor descartar muestras y fotos en exceso, que lamentar no haberlas tomado. Medir cada marca/lesión encontrada (todas sus dimensiones) y tomar muestras para histopatología de secciones marcadas y vecinas para determinar si las marcas o lesiones fueron ocasionadas antes o después de la muerte del animal. Siempre consultar con especialistas en el tema (tanto veterinarios como pescadores, etc.).

#### EXAMEN EXTERNO:

- a) Evaluación de interacción humana
- b) Evaluación de condición corporal
- c) Evaluación de la piel
- d) Evaluación de ectoparásitos
- e) Evaluación de los cayos
- f) Evaluación del espiráculo
- g) Evaluación de la cavidad bucal
- h) Evaluación de los ojos
- i) Evaluación del ombligo o cordón umbilical
- j) Evaluación de la hendidura genital y glándulas mamarias
- k) Sexado de la ballena

**Evidencia de IH:**

**1) Marcas o líneas de pesca:** la interacción con artes de pesca es la forma más sutil y variada de interacción humana. Su detección en cetáceos es fácil en comparación con otros mamíferos marinos debido a las marcas que dejan en su piel. Ocurren principalmente en los bordes de la cabeza, aletas pectorales y pedúnculo.



Las líneas de pesca están hechas de varios filamentos de un material como nylon, polipropileno, cáñamo, o algodón, que se entrelazan para formar un cabo. Por otra parte, también están los hilos que forman las mallas de las redes. Estos pueden ser de un filamento o de varios (monofilamento o multifilamento, ver Figura 10, 11 y 12) y se entrelazan formando nudos.

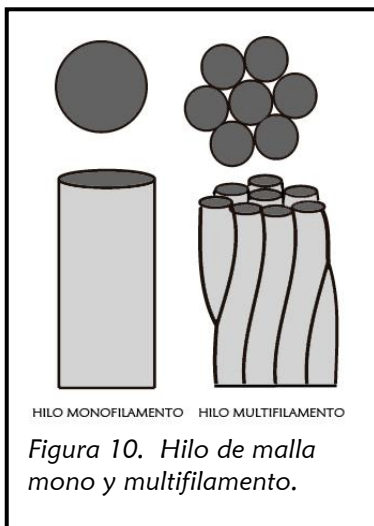


Figura 10. Hilo de malla mono y multifilamento.

Hay de varios materiales y las mallas de las redes pueden tener a su vez varias combinaciones (redes sencillas flotantes, de fondo, redes mixtas, con armazones o redes de batir). Las ballenas se pueden enredar con las líneas de pesca (cabos) o las mallas de las redes. Por otra parte está la pesca con palangre (palangre de fondo, semi-pelágico y pelágico), que no posee red pero sí un cabo, ganchos y boyas. La ballena se puede enganchar con cualquiera de estas partes.

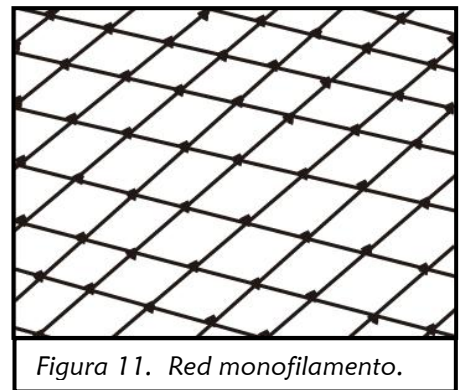


Figura 11. Red monofilamento.

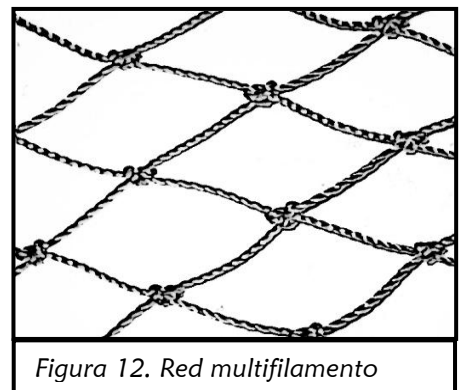


Figura 12. Red multifilamento

Características generales de las lesiones por líneas o redes de pesca:

Las impresiones causadas por las líneas o redes de pesca desaparecen rápidamente a medida que el cadáver se seca o se quema la piel con el sol. Las abrasiones se dan con líneas o hilos con mayor diámetro y las laceraciones con líneas o hilos de menor diámetro (monofilamentos especialmente). Las marcas en la piel causada por las redes son variadas, pero las formas en “X” sobre la piel son características. Si el

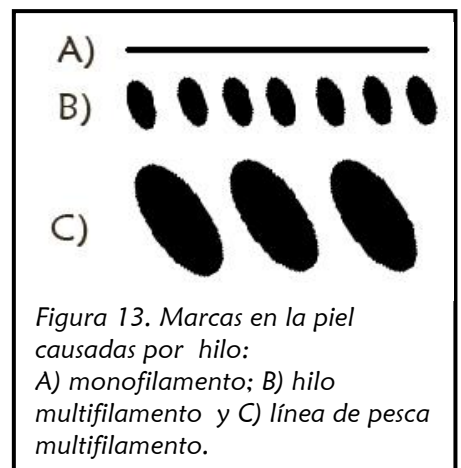


Figura 13. Marcas en la piel causadas por hilo: A) monofilamento; B) hilo multifilamento y C) línea de pesca multifilamento.

animal estuvo mucho tiempo enredado se verá tejido de granulación característico de procesos crónicos. Las marcas ocasionadas por los hilos monofilamentos dejan líneas sobre la piel mientras que las ocasionadas por hilos multifilamentos dejan marcas paralelas ovals de pequeño diámetro. Sucede lo mismo con las líneas de pesca (cabos) pero la diferencia es que son de mayor diámetro (ver Figura 13).

**2) Evidencia de colisión con embarcación:** éstas se dan con las partes sobresalientes de una embarcación. Las lesiones por embarcaciones son muy diferentes entre sí, dependiendo del tipo de embarcación, el tamaño, la velocidad, y la parte de la embarcación y del animal implicada. Se debe hacer un minucioso examen externo e interno para ver si la lesión fue pre o post mortem, confirmándolo mediante análisis histopatológicos. También se debe registrar fotográficamente todas las lesiones y obtener la mayor información posible (número de lesiones de cabeza hacia caudal, largo ancho y profundidad de la lesión, distancia entre lesiones si hay cortes paralelos, etc.).

La ballena puede colisionar con la hélice, el timón, la quilla, la proa o con el casco de la embarcación (Figura 14). Las partes filosas de los barcos pueden causar heridas penetrantes que son muy características al examen externo. Entre ellas, las heridas con la hélice son las más comunes. Hay varios tipos, tamaños y dependen del número de palas. La profundidad, el largo y el espacio entre lesiones nos pueden brindar información del tipo de hélice, así como la dirección de la embarcación y velocidad. Las hélices dejan lesiones paralelas profundas o laceraciones. Pueden ser lineales, en forma de "Z", "S" o curvadas. Los barcos pueden tener una o dos hélices separadas por diferentes distancias o pueden estar juntas pero rotando en sentido contrario, formando lesiones en diamante o en "X".

Características generales de las lesiones por hélices:

- Generalmente se observa más de una herida.
- Laceraciones lineales o levemente curvadas (Figura 15).
- Generalmente forman un patrón secuencial o en forma de tirabuzón.
- Si la prolongación de la quilla que da soporte al timón sobresale (quilla accesoria) y es filosa se ve una línea transversal al patrón secuencial causado por el hélice (Figura 16).

La **proa**, la **quilla**, el **casco** y otras partes del barco pueden causar contusiones causando lesiones internas (hemorragia interna, edema y

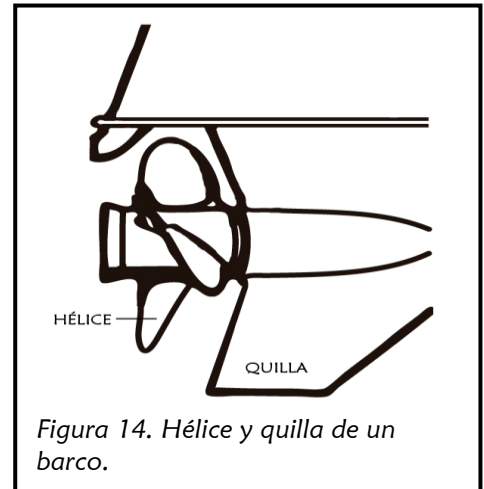


Figura 14. Hélice y quilla de un barco.

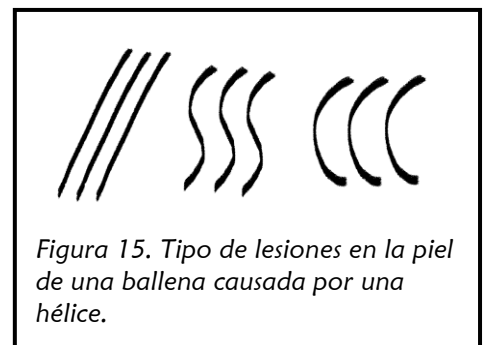


Figura 15. Tipo de lesiones en la piel de una ballena causada por una hélice.

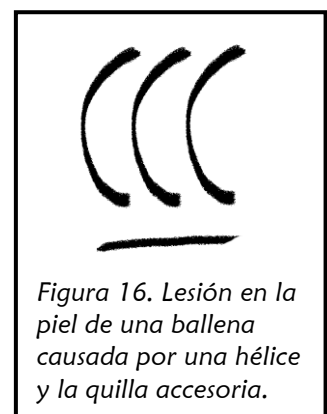
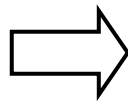


Figura 16. Lesión en la piel de una ballena causada por una hélice y la quilla accesoria.

fractura de huesos) generalmente sin lesiones externas.

Características generales de las contusiones:

- Presencia de bultos o puntas en el cuerpo, hinchazón, abrasiones y cadáver de apariencia anormal.
- Sangre en ojos, boca y espiráculos.
- Lesiones internas: siempre presentes, indicadores de diagnóstico primario. Puede tratarse de hemorragia subcutánea y hematomas en grasa y músculo (color violeta de textura gelatinosa), tejido edematoso, huesos rotos o lesión en órganos (ver ejemplo de Foto 21 y 22). En cetáceos grandes, el traumatismo en una área se descompone más rápido que las zonas sanas.



**Interacciones indeterminadas:**

Marcas naturales o desconocidas, predación por orcas o tiburones, carroñeros como los armadillos, gaviotas y petreles que destruyen todo tipo de evidencia (ver Foto 23), y cadáveres en descomposición causan confusión al momento de evaluar el integumento. Debido a que la piel en los cetáceos es muy sensible, cualquier contacto con la misma deja marca, por lo que cuesta distinguir entre lo natural o lo causado por actividades antrópicas. Además, cuando la muerte se produce en el agua, la piel se degrada en poco tiempo y se desprende, mientras que si la ballena queda varada al sol, la piel se seca rápidamente y se cuartea. El efecto de las mareas y las olas hace que la piel de la ballena varada muerta se lesione con las restingas, causando lesiones post-mortem. Por otra parte, cuando una lesión causa la muerte inmediata, no se produce una reacción tisular, y en tal caso no se puede saber si ocurrió pre-mortem o post-mortem. Por otro lado, en muchos casos no se puede realizar un examen externo completo porque el peso de las ballenas (excepto cuando se trata de individuos muy chicos) no permite darle la vuelta.

En general, y debido al gran número de factores que pueden llevar a confusión, se debe tener en cuenta todas las variables explicadas anteriormente. Aun así, en la mayoría de los casos se evalúa la IH como “indeterminada”.



Foto 23. Lengua carroñeada por petreles en una cría de ballena.

*Hallazgos de necropsia frecuentes pero no indicativos de IH*

- Espuma en los pulmones
- Evidencia de alimentación reciente
- Condición robusta
- Casos similares en el mismo lugar

## b) EVALUACIÓN DE LA CONDICIÓN CORPORAL

En cetáceos resulta muy difícil valorar la condición corporal con un score del 1 al 5, como en otras especies. Generalmente, sólo se puede indicar si está o no caquéctico. Se considera que un animal está caquéctico cuando presenta los siguientes signos: músculos epiaxiales cóncavos, cuello, costillas, escápula, huesos de la cadera y/o procesos vertebrales marcados.

## c) EVALUACIÓN DE LA PIEL

Se describe si está presente, si se ve normal, anormal (si presenta lesiones, engrosamientos, cicatrices, etc.), descompuesta debido a cambios post-mortem o carroñeada. Si presenta lesiones, basarse en las descripciones detalladas en la *Pág. 24* en el sector “Tipo de Lesiones externas dentro de Examen externo”. Se debe describir también la apariencia de la piel; si se encuentra muy elástica, elástica, cuarteada o si le falta piel, en cuyo caso se debe anotar el porcentaje de piel ausente (*Foto 24*).

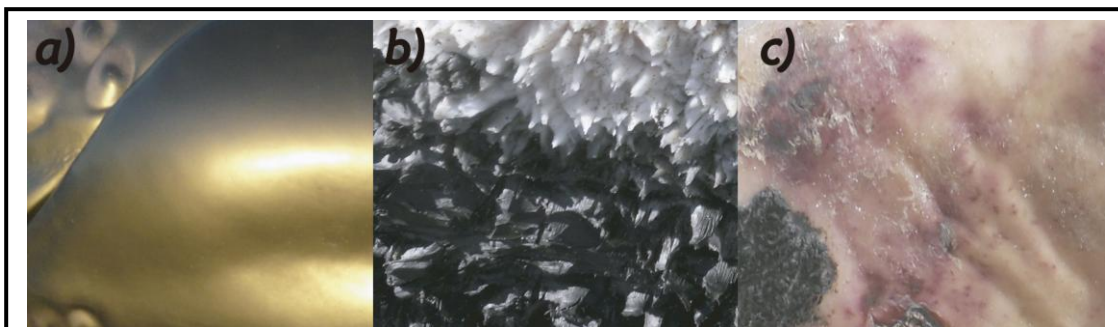


Foto 24. Tipos de apariencia de piel encontradas en necropsia: a) piel normal; b) piel carroñeada y c) sin piel

## Lesiones por gaviotas:

En Península Valdés algunas gaviotas han desarrollado un comportamiento aberrante por el cual se alimentan de piel y grasa de ballenas vivas, especialmente de las crías. Las lesiones que causan se caracterizan por estar ubicadas en la línea media dorsal del cuerpo en forma de cráter y puede tratarse desde lesiones superficiales que afectan únicamente a las capas superficiales de la piel hasta lesiones más graves y profundas, que llegan a afectar a la grasa (incluso en todo su espesor) y al músculo. Para poder determinar si una lesión de la piel en



un animal muerto corresponde a una lesión pre-mortem y no a una post-mortem, primero se valora la ubicación. Si son al azar, distribuidas en todas partes del cuerpo, son debidas a carroñeros. Por otra parte, si las lesiones son del tipo “cráter” y en la línea media dorsal, éstas son típicamente causadas por gaviotas cuando el animal estuvo vivo. A su vez, si se secciona la lesión, la mayoría de las veces la membrana basal de la piel no sigue una línea longitudinal (ver Foto 25 y 26). Si hay dudas sobre si fueron pre o post mortem, se debe tomar una muestra para histopatología con el fin de confirmarlo. Se debe describir tamaño, aspecto general (si es superficial o profunda) y cantidad de lesiones en el dorso. En general, se debe describir y medir todo lo anormal sin olvidar nunca de tomar fotografías y de graficar las lesiones en las planillas, así como de tomar muestras de todo lo que parezca anormal. Para histopatología tomar una muestra periférica anormal, una central de la lesión y otra muestra periférica con tejido sano/normal y en caso de haber indicio de infección, hay que tomar muestras para investigación de patógenos (ej. bacterias hisopados, virus tejido congelado)



Foto 25. Izquierda: sección de piel carroñeada normal. Derecha: sección de piel con lesión ante-mortem por gaviota. La coloración rojiza se debe a la congestión hipostática.



Foto 26. Sección de una lesión tipo “cráter” ocasionado por los picotazos de gaviota ante-mortem.

#### d) EVALUACIÓN DE ECTOPARÁSITOS

Las ballenas francas poseen ectoparásitos de 2 tipos desde poco tiempo después de nacer. Los que vulgarmente la gente llama “piojos”, se denominan ciámidos (Foto 27), y son crustáceos anfípodos de la familia Cyamidae que se alimentan de la piel de la ballena y permanecen toda su vida en su superficie. Prefieren las zonas de los cayos, bordes de los labios, espiráculo, ombligo, abertura genital, alrededor de los ojos y en los pliegues de la piel. Son específicos de especie y en la BFA existen tres especies: *Cyamus erraticus*, *C. gracilis* y *C. ovalis*. Por otro lado las BFA pueden presentar cirripedios (*Tubicinella major*) que son crustáceos pertenecientes a la familia Balanidae, y son endémicos en las ballenas francas australes. Durante la evaluación externa, se debe anotar si están vivos, muertos o ausentes en el cadáver, así como describir color, cantidad, y ubicación de los mismos. La



Foto 27. ciámidos sobre la piel de una ballena muerta.



Foto 28. Cayo con cirripedio de la región de la cara de una ballena adulta.

presencia o no de ciámidos es indicativo del tiempo trascurrido desde la muerte de la ballena.

### e) EVALUACIÓN DE LOS CAYOS

Los cayos son engrosamientos de la piel y se localizan en la cara de la ballena (Foto 28). Se encuentran cubiertos por densas poblaciones de ciámidos y cirripedios que le dan su color característico. Se debe anotar presencia o ausencia de cayos (las crías de pocos meses poseen un cayo en formación y no tienen cirripedios). En caso de tener cirripedios, se debe indicar si están vivos o muertos.

### f) EVALUACIÓN DEL ESPIRÁCULO:

Describir color y aspecto de las mucosas. Anotar si tiene presencia de sangre, espuma, o de líquido. Abrir el espiráculo para ver si hay obstrucciones o presencia de líquido a mayor profundidad (Foto 29).

### g) EVALUACIÓN DE LA CAVIDAD BUCAL :

Examinar la cavidad bucal (Foto 30) en busca de fracturas o lesiones. Describir la mucosa oral, la presencia o no de barbas, si la lengua está normal, edematosa o carroñeada. Los carroñeros tienen predilección por las partes blandas, por lo que la lengua muchas veces está parcial o totalmente ausente.

### h) EVALUACIÓN DE LOS OJOS:

Examinar ambos ojos en busca de hematomas u otra anomalía (por ejemplo, esclerótica roja por ruptura o agrandamiento de vasos en la conjuntiva, Foto 31). Describir la córnea (si está opaca o reseca), si están en posición normal o prolapsados.

### i) EVALUACIÓN DEL OMBLIGO O CORDÓN UMBILICAL:

Describir aspecto, si está abierto, en proceso de cicatrización o si ya está cicatrizado (Foto 32 y 33). El ombligo puede encontrarse parcialmente abierto naturalmente por tratarse de una cría recién nacida o bien puede haber sido abierto por los carroñeros. Por esta razón, se debe anotar cualquier signo de interacción por carroñeros que lleve a confusión.



Foto 29. Espiráculo de una cría varada muerta.



Foto 30. Cavidad bucal de una cría varada muerta. Lengua edematosa.



Foto 31. Ojo con esclerótica hemorrágica en una cría varada muerta.



Foto 32. Ombligo en proceso de cicatrización en una cría varada muerta.



Foto 33. Cordón umbilical de un neonato varado muerto.

## j) EVALUACION DE LA HENDIDURA GENITAL Y GLANDULAS MAMARIAS:

Se debe describir el aspecto y color de las mucosas, la presencia o no de leche en glándulas mamarias en adultos, y el grado de distensión de la hendidura genital debido a la presión que ejercen los gases internos de la putrefacción (definir como “prolapso de la hendidura y glándulas mamarias”). (Ver Foto 34 y 35).

## j) SEXADO DE LA BALLENA

El sexo se define por la distancia entre ombligo, hendidura genital y ano (ver Figura 17 y Foto 34 y 35),

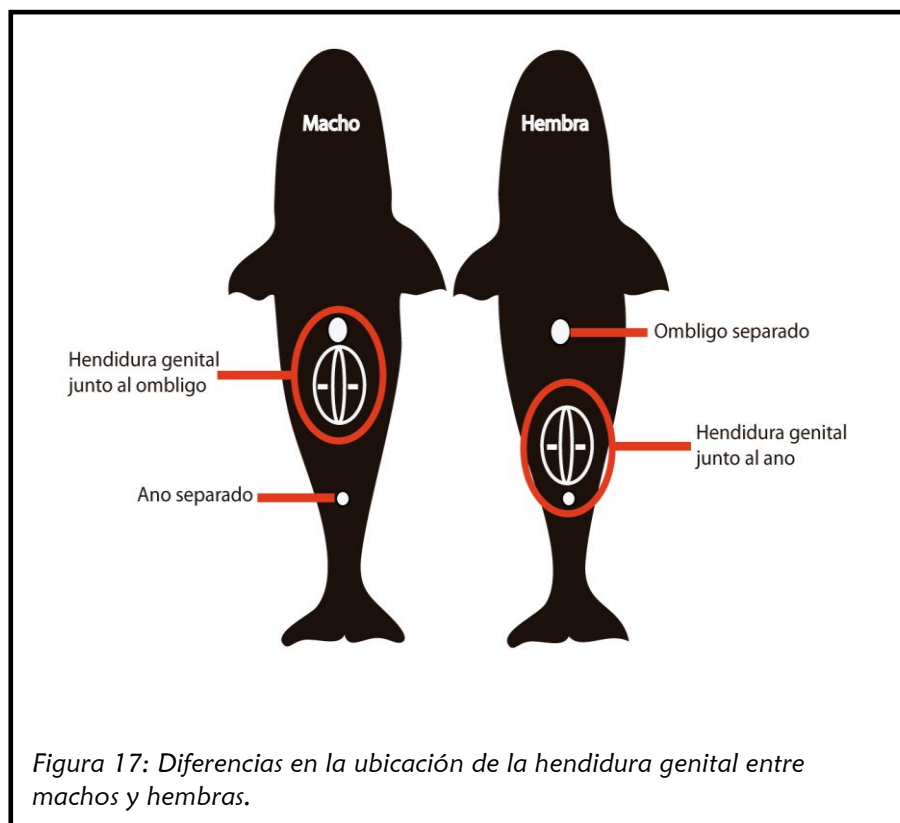


Figura 17: Diferencias en la ubicación de la hendidura genital entre machos y hembras.

## VI. TOMA DE MUESTRAS EXTERNAS

Se pueden realizar una gran cantidad de análisis con las muestras colectadas de ballenas muertas. Mientras algunos son importantes para evaluar la salud de la población de la ballena franca austral, otros brindan información acerca de la biología y distribución de las ballenas. La toma de muestras externas puede variar cada año, en función de las investigaciones en curso y a las diversas colaboraciones con investigadores. En el año 2013 se tomaron las siguientes:

- **Piel:** se toma este tipo de muestras para análisis genéticos. Se conservan muestras de piel de 0,5-1 x 0,5-1 cm en frascos en alcohol al 96% a temperatura ambiente (Foto 36). Para genética se puede tomar muestras de piel de cadáveres que presentan cualquier tipo de condición de necropsia y en caso de no presentar piel o si esta se encuentra muy seca se puede optar por muestras de músculo u otro tejido e incluso de médula ósea en animales muy descompuestos.

La piel se puede utilizar también para determinación de patrones y zonas de alimentación y el posible impacto del calentamiento global mediante análisis de isótopos estables. Estas muestras se colocan en ziploc o viales y se conservan congeladas a -20° C. Otro tipo de análisis reciente es la utilización de piel para análisis inmunohistoquímicos en busca de enzimas indicadoras de estrés. Se requiere tomar piel fresca de 1x1 cm y conservar en formol bufferado al 10%.

- **Lesiones de piel causadas por gaviotas:** para análisis histopatológicos de la lesión. Conservar 2 muestras de 1x1 cm en frasco con formol bufferado al 10%. Otra muestra se conserva en bolsa *whirlpack* y se congela en nitrógeno líquido para detección de toxinas o patógenos mediante técnicas moleculares (PCR). En la piel hay enzimas indicadoras de estrés que pueden ser medidas y cuantificadas mediante técnicas de inmunohistoquímica. Conservar 2 muestras del centro y borde de lesiones de 1x1 cm en formol bufferado al 10%.
- **Barbas:** las barbas (estructura córnea formada por queratina) se utilizan para análisis de isótopos estables para determinar los patrones y zonas de alimentación y el posible impacto del calentamiento global. Se usan las barbas más largas, que se encuentran siempre en el medio del paquete de barbas. No se requiere de ningún medio de conservación. Se las guarda al sol en una caja que tenga una malla para evitar que las moscas depositen sus huevos en los restos de encía que quedaron en las barbas, o bien se pueden colocar en una bolsa ziploc y congelar



Foto 36. Cortando piel para poner en viales con alcohol.



Foto 37. Cría de ballena muerta con la boca abierta en posición ventro-dorsal



Foto 38. Cría de ballena muerta con la boca cerrada en posición lateral derecho.

a -20 C. También se puede usar la porción de barba unida a la encía para análisis genéticos, colectando una pequeña parte de la misma en criovial con RNAlater y conservarlo en freezer a -20° C.

Recomendación de cómo extraer barbas en crías de ballena: Muchas veces la boca del animal se encuentra abierta debido a que la lengua se edematiza (cambio post-mortem) exponiendo las barbas (Foto 37). Otras veces sucede lo contrario, encontrándose la boca cerrada, ocultando las barbas (Foto 38). En este último caso lo ideal es cortar el labio inferior para dejar las barbas visibles (Foto 39 y 40). Luego se procede a la extracción de una o dos

barbas de las más largas que suelen ser las centrales. Primero se coloca el cuchillo entre 2 barbas y se corta hasta llegar al hueso del maxilar superior. Se repite el procedimiento en la cara opuesta de la barba (Foto 41). Luego se hacen movimientos hacia delante y atrás (Foto 42 y 43) y la barba debe salir con facilidad (Foto 44).



Foto 39. Cortando labio inferior de una cría varada muerta para exponer barbas, posición del cadáver en lateral derecho.



Foto 40. Sección total del labio inferior para exponer las barbas, posición del cadáver en lateral derecho.

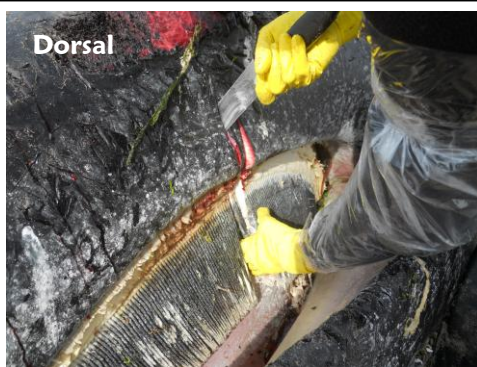


Foto 41. Cortando con el cuchillo en la profundidad del labio superior hasta llegar al maxilar. Posición del cadáver en ventro-dorsal.

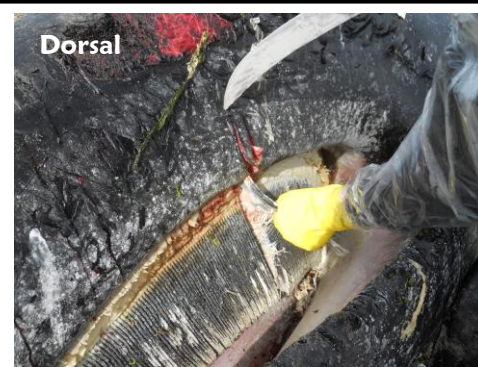


Foto 42. Moviendo la barba hacia arriba para sacarla de su lugar. Posición del cadáver en ventro-dorsal.



Foto 43. Moviendo la barba hacia arriba para sacarla de su lugar. Posición del cadáver en ventro-dorsal.



Foto 44. Extracción total de barba. Posición del cadáver en ventro-dorsal.

- Globo ocular/humor acuoso:** se puede utilizar el cristalino para determinar la edad evaluando la fibrosis del mismo, mientras que con el humor acuoso (condición 2 y 3, Foto 45) se puede hacer serología, análisis de enfermedades infecciosas e incluso análisis de toxinas causada por la marea roja. Guardar ojo entero en bolsa zip-loc y congelarlo a  $-20^{\circ}$  C, y el humor acuoso en un vial y congelado en nitrógeno líquido. Si el humor acuoso de un ojo se encuentra rojo, no se debe mezclar con el humor acuoso normal (transparente) del otro. En tal caso, guardar en viales separados.
- Humor vítreo:** es un fluido relativamente protegido de la degradación y contaminación post-mortem. Debido a su estabilidad post-mortem tiene gran utilidad en patología forense. Debido a su correlación con concentraciones séricas, numerosos electrolitos pueden ser medidos en este fluido para estimar concentraciones pre-mortem en suero (ej. glucemia, urea, Na, Cl, etc) y/o establecer tiempo de muerte (ej. potasio). Aunque no existe una metodología detallada sobre su conservación y procesamiento en ballenas, sugerimos colectar el humor vítreo en crioviales y conservar congelado en nitrógeno líquido. Una alternativa sería conservar refrigerado, centrifugar, y conservar el sobrenadante.



Foto 45. Extracción de humor acuoso de la cámara anterior del ojo.

Recomendación de cómo extraer el ojo:

Primero incidir con el cuchillo el párpado y extraer el párpado superior e inferior para exponer el ojo (ver Figura 18, punto A). Una vez expuesto (Figura 18, punto B) sostenerlo con una mano y con la otra clavar el cuchillo hasta llegar al hueso de la órbita e incidir en forma circular alrededor del ojo para separar el ojo de los tejidos blandos que lo unen (Figura 18, punto C; Foto 46). Finalmente cortar el nervio óptico (Figura 18, punto D; Foto 46)

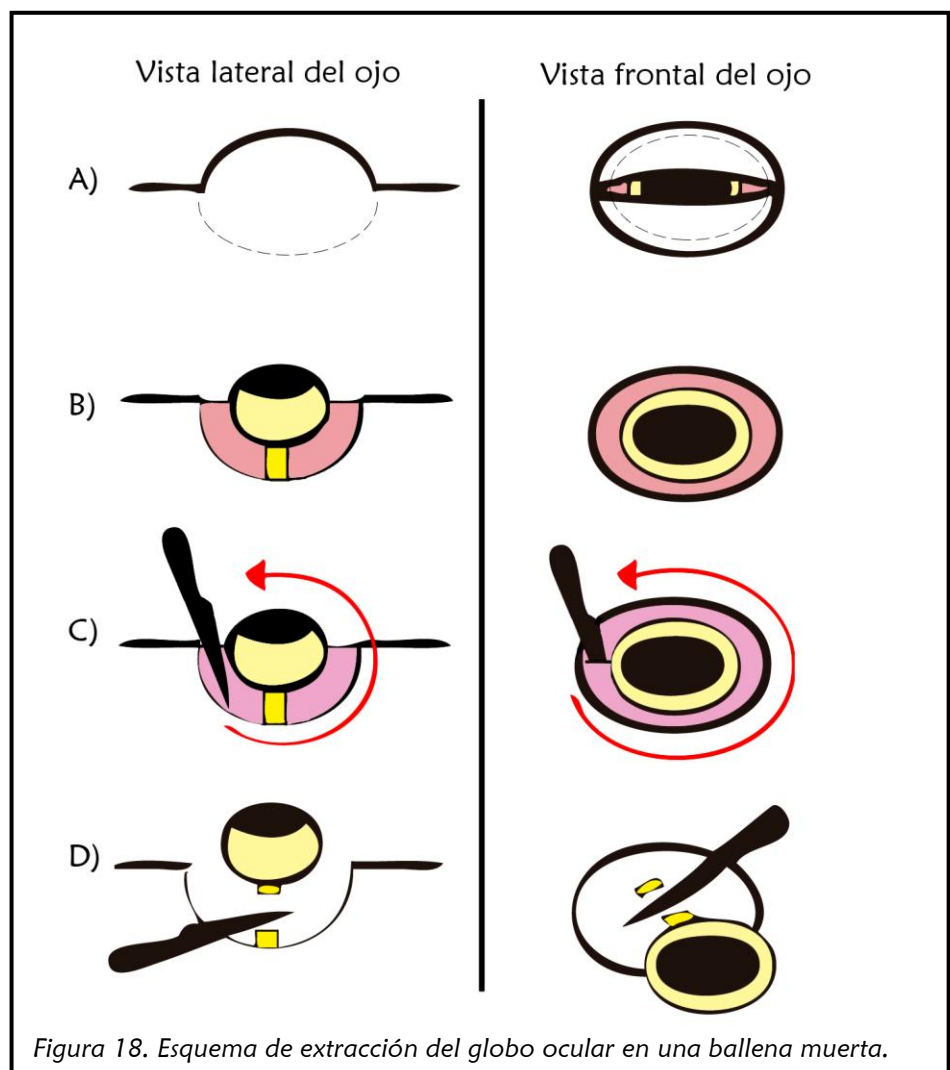


Figura 18. Esquema de extracción del globo ocular en una ballena muerta.



Foto 46. Extracción del globo ocular en una cría varada muerta.

- **Sangre.** Los principales puntos donde intentar extraer sangre en una ballena muerta son: el paladar duro, el pedúnculo o de los vasos del ojo al extraerlo. Si no es posible, directamente del corazón durante el examen interno (ver Fotos 47, 48 y 49). Si la sangre se extrae del pedúnculo, se debe hacer un corte en “V” para que la sangre salga en cantidad y así poder recolectarla en un frasco. Del paladar, hacer un corte transversal y recolectar la sangre en un frasco. Sacar del frasco inmediatamente la sangre con jeringa para realizar los siguientes procedimientos:



Foto 47. Sección total del pedúnculo para mostrar vasos sanguíneos en la zona ventral del pedúnculo.



Foto 48. Vasos sanguíneos en la zona ventral del pedúnculo de una cría varada muerta.



Foto 49. Paladar duro sangrando. Área muy vascularizada para extracción de sangre.

-Realizar extendidos en portaobjetos con sangre fresca, dejar secar al aire en un lugar protegido del viento y la arena, y luego se deben fijar con metanol para su posterior tinción. Sólo se deben realizar extendidos de sangre de animales en



Foto 51. Aplicando gotas de sangre entera en tarjetas FTA Whatman Card.



Foto 50. Aplicando gotas de sangre entera en tarjeta Whatman para estudios de biotoxinas.

condición 2. Guardar al menos 10 ml de sangre en tubo con EDTA o heparina. Se utilizarán para análisis hematológicos.

-Depositar unas gotas en los círculos de las tarjetas Whatman (*Foto 50* y *FTA Whatman Card Foto 51*) y dejar secar. Contienen químicos que lisan las células, desnaturalizan las proteínas y protegen el ácido nucleico de nucleasas, de la oxidación y el daño causado por los rayos UV. Una vez secas, guardar en bolsa zip-loc individuales y congelar a -20°C para evitar que se humedezcan y proliferen hongos o que el RNA o ADN se desnaturalicen con el tiempo. Esta muestra se debe coleccionar siempre, independientemente de la condición del animal (2, 3 o 4). Con estas muestras se pueden realizar análisis mediante técnicas moleculares (PCR) para identificación de agentes patógenos, análisis especiales para detección de biotoxinas causadas por las algas nocivas causantes de la marea roja y análisis por métodos como ELISA para detección de anticuerpos.

-**Suero** (sólo de cadáveres frescos de condición 2). Colocar 10 ml de sangre en 10 tubos con gel separador para suero y centrifugarlo para extraer el suero. Pasar el suero a crioviales y conservar en nitrógeno líquido. Con el suero se pueden realizar análisis serológicos para detección de anticuerpos o antígenos de agentes patógenos. También se pueden realizar análisis toxicológicos y nutricionales.

- **Ciámidos:** poner ciámidos en vial hermético en alcohol al 96% (*Foto 52*). Se realizan con ellos estudios de la evolución del parásito. Si los ciámidos están vivos guardar en bolsa whirlpack y conservar en nitrógeno líquido para estudios.....
- **Cordón umbilical/ombligo:** guardar muestra de una sección longitudinal del ombligo o una sección transversal del cordón en bolsa whirlpack y congelar en nitrógeno líquido (*Foto 53*). Otra muestra de 1 cm<sup>3</sup> guardar en frasco hermético con formol bufferado al 10%. Se utilizarán para detección de patógenos (botulismo y brucelosis) e histopatología.
- **Hisopados (espiráculo, genital y anal)** para la detección de patógenos. En caso de tener acceso a un laboratorio para su aislamiento e identificación inmediata, tomar hisopados en medio de transporte bacteriano (medio Stuart), refrigerarlos y enviarlos dentro de las 46-72 hrs. De lo contrario, realizar hisopados con hisopos estériles sin medio o con medio viral (VTM) para luego congelar en nitrógeno líquido con el fin de detectar virus mediante técnicas moleculares (PCR).



*Foto 52. Ciámidos recolectados de una ballena varada muerta.*



*Foto 53. Sección de un ombligo en proceso de cicatrización.*

## VII.MEDIDAS DEL GROSOR DE GRASA

Para medir la grasa (sin piel) se debe colocar la regla en posición perpendicular (*Foto 54*). Si se mide en forma oblicua (*Figura 19*) las mediciones serán incorrectas. Lo recomendable es



medir el grosor de la grasa en forma sistemática en lugares específicos: al menos 3 mediciones en cada una de las líneas medias dorsal, lateral y ventral (ver *Figura* del ANEXO 6). La toma de la medida ventral más caudal se realiza caudal al ano, a unos 10 cm del mismo para evitar el tejido conectivo que lo rodea. Estas medidas servirán para evaluar estado nutricional.



Foto 54. Midiendo el espesor de la grasa.

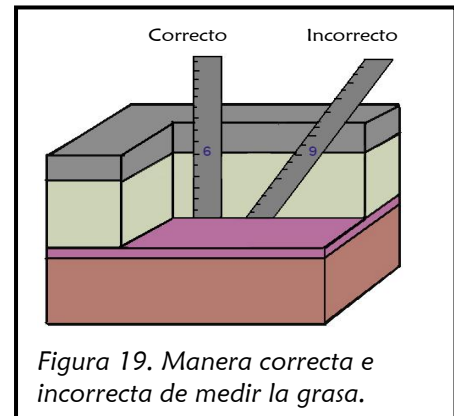


Figura 19. Manera correcta e incorrecta de medir la grasa.

## VIII. EXAMEN INTERNO

La exploración interna de los órganos y tejidos de forma minuciosa y metódica brinda muchísima información, siempre y cuando la ballena no se encuentre en avanzado estado de descomposición. Lamentablemente este suele ser el caso de la mayoría de los cadáveres de ballenas encontradas en la playa, ya que mueren en el agua y pueden pasar varios días hasta que los vientos y las mareas los encallen en la costa y sean descubiertos y necropsiados. Por lo tanto, normalmente sólo se realizan necropsias parciales según el estado de descomposición de los órganos/tejidos (ver planilla de examen interno utilizada por el PMSBFA en ANEXO 9)

### TÉCNICAS DE NECROPSIA:

**Extracción de piel, grasa y músculos axiales:** Independientemente de la posición en que se encuentre el cadáver, se hace un corte longitudinal dorsal de la piel junto a la grasa y 2 cortes laterales lo más próximos al suelo posible (ayuda a que las vísceras caigan hacia fuera y no queden retenidas en la cavidad abdominal, y a su vez en cadáveres muy descompuestos en donde todo el contenido se encuentra licuado, este corte ayudará a que salga todo el líquido al exterior). A continuación, realizar cortes transversales cada 50 cm o menores para formar paneles rectangulares (*Foto 55*). Posteriormente se empieza por un panel, separando con un cuchillo el tejido subcutáneo del músculo (*Foto 56*). Repetir el procedimiento hasta dejar expuesta sólo la capa muscular de un lado (*Foto 57, 58* y *Figura 20*, apartado A) para luego repetir la maniobra del lado opuesto. Independientemente de la posición del animal, en la región de las aletas pectorales, separar la cabeza del húmero de la escápula, diseccionando la cápsula articular, para poder extraer el panel de piel junto a la aleta y así dejar la escápula para su disección posterior. Una región dificultosa es la genital y anal. Aquí

se debe evitar cortar sobre la hendidura y ano por la gran cantidad de tejido conectivo y su grosor, debiendo hacerse siempre el panel alrededor de la hendidura. Mientras se van separando los paneles se va inspeccionando simultáneamente la grasa y músculo en búsqueda de posibles hematomas u otras lesiones. Es recomendable dejar los paneles con la piel tocando la arena y la grasa y el tejido subcutáneo hacia arriba para poder utilizarlos como mesa para apoyar órganos y evitar que se contaminen. Una vez documentada la inspección de la grasa y músculo proceder a la extracción de la escápula para inspeccionar ganglios axilares (Foto 59,60, 61, 62 y Figura 21).



Foto 55. Primeros cortes de piel y grasa en una ballena muerta.



Foto 56. Primer panel separado.



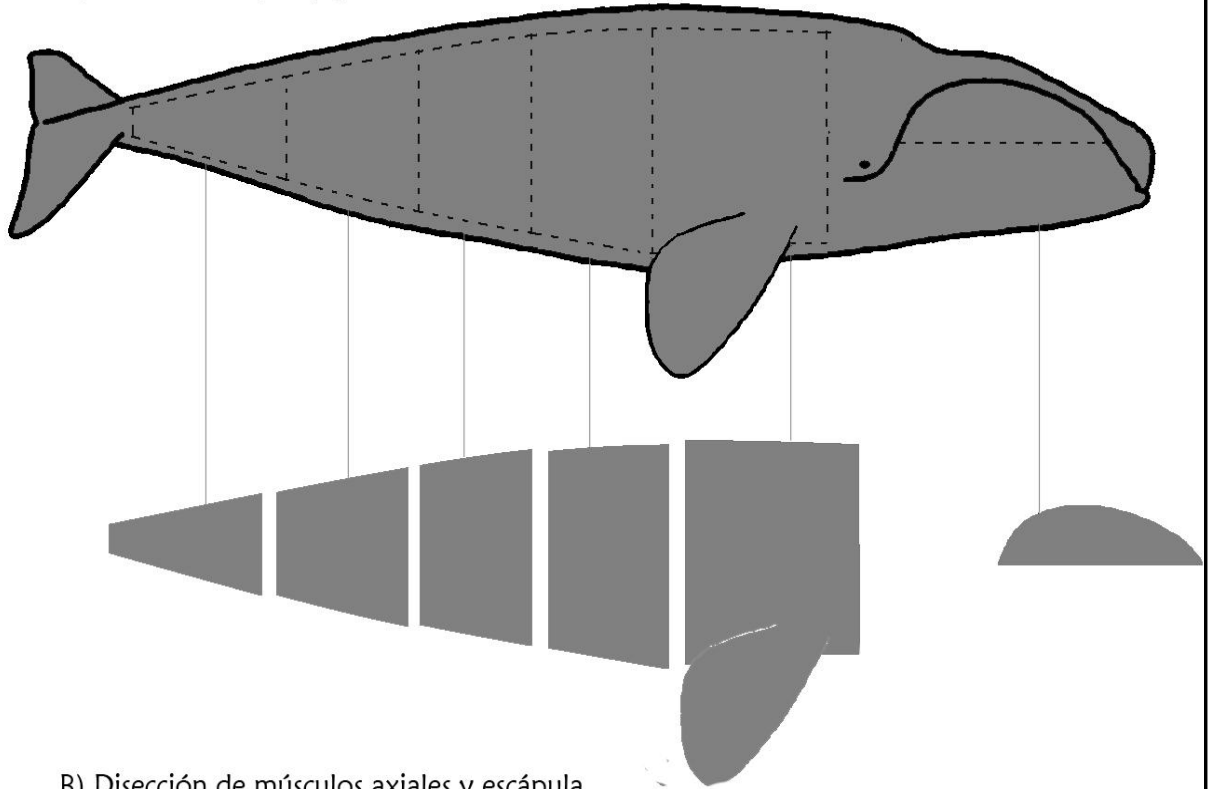
Foto 57. Separando el tejido subcutáneo del músculo.



Foto 58. Disección de piel y grasa de un lado.

- 1) **Inspección de cavidad torácica y abdominal:** diseccionar músculos axiales (epi e hipoaxiales, que cubren todo el tronco del animal, *Figura 20* apartado B)) para despejar la zona torácica y abdominal. Sólo en el caso que el cadáver se encuentre en posición ventro-dorsal (es decir, el vientre hacia abajo) es recomendable sacar parte de las vertebrae caudales ya que estas ejercen presión hacia la cavidad abdominal, dificultando la inspección (ver *Figura 22*). Se puede comenzar por la cavidad torácica o la abdominal de manera indistinta, siempre que no se contamine la zona torácica con materia fecal.

A) Disección de piel y grasa



B) Disección de músculos axiales y escápula

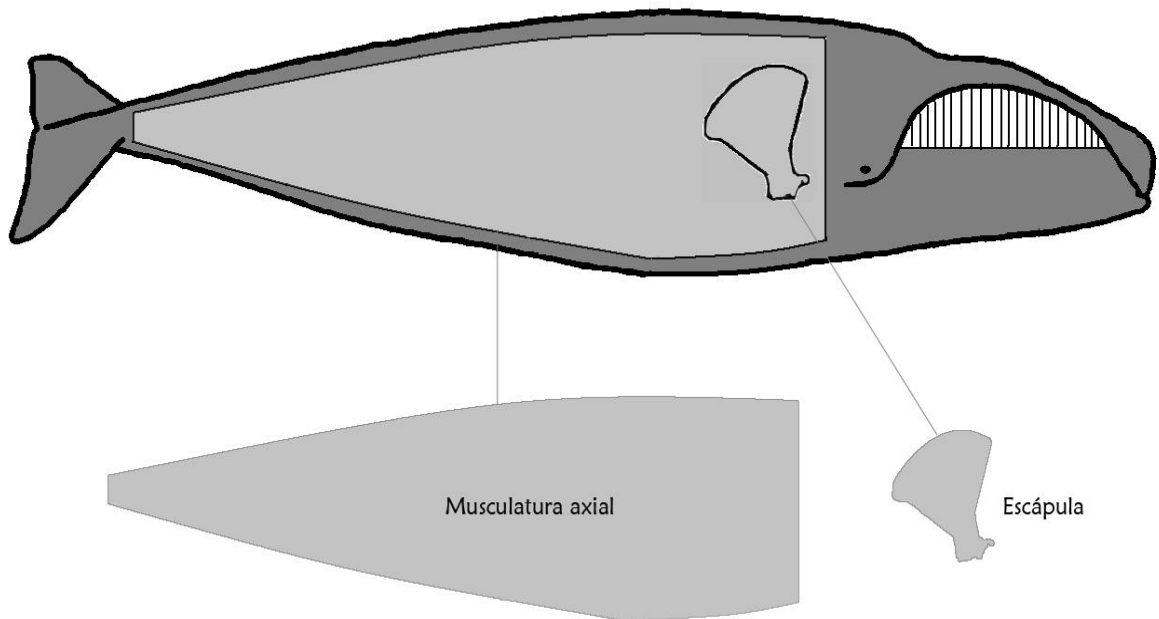


Figura 20: Disección de piel, grasa y musculatura en una cría de ballena cuando se encuentra en posición lateral izquierda.

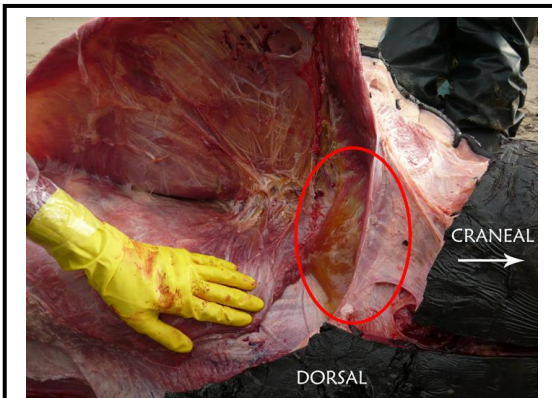
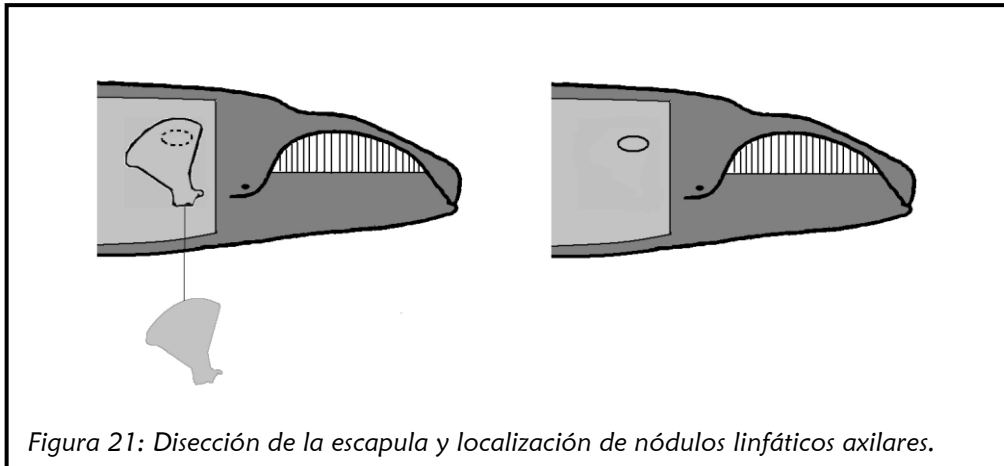


Foto 59. Levantando borde superior de escápula. Circulo en rojo delimitando área de ganglios axilares.



Foto 60. Sección de ganglio axilar.



Foto 61. Disección de escápula en una cría de ballena varada muerta en posición lateral derecha.



Foto 62. Aleta exponiendo cabeza humeral y escápula mostrando inserción de la cabeza.

**GRASA:** la grasa de los cadáveres frescos debe ser de consistencia firme, lisa y color blanquecino y levemente aceitosa (Foto 63). Hay grasas frescas pero con color de rosado a rojo por la lividez hipostática. A medida que la grasa se descompone se va ablandando, su

coloración se torna más rosada (Foto 64) o amarillenta y es muy aceitosa. A medida que va perdiendo todo el contenido graso, va quedando el tejido conectivo en forma de hebras. Evaluar grasas con condición 2 y 3 para determinar la presencia de hematomas u otras anomalías. Las mediciones sistemáticas del grosor de la capa de grasa a lo largo de los años de estudio se efectúan para evaluar el estado nutricional de los animales.



Foto 63. Grasa firme y de color blanquecino: condición 2.



Foto 64. Grasa blanda, de color rosada, aceitosa: condición 3.

### **INSPECCIÓN DE LA CAVIDAD TORÁCICA:**

Antes de abrir la cavidad, se debe punzar el diafragma para evaluar la presión negativa. Su ausencia indica que el animal presentaba una patología pulmonar (por ejemplo una neumonía), que no respiró al nacer o que el cadáver está en avanzado estado de descomposición. Se recomienda sacar todo el paquete costillar cortando la unión costo-condral con un cuchillo o costótomo (ver Foto 65 y Figura 22) o sacando costilla por costilla diseccionando los músculos intercostales y luego ejerciendo presión hacia adelante para quebrarlas en su unión. Es más práctico y veloz la primera técnica, se requiere de menor fuerza y no quedan puntas filosas sobresalientes que podrían lastimar. Inspeccionar cuidadosamente los órganos sin sacarlos de su lugar (ver Foto 66). Anotar presencia de anomalías como decoloraciones, adherencias, lesiones, presencia de líquidos, hemorragia interna, etc. Tomar muestras de los hallazgos anormales antes de sacar los órganos de su lugar.



Foto 65. Seccionando paquete costillar en la unión costo-condral en una cría de ballena varada muerta en posición ventro-dorsal.

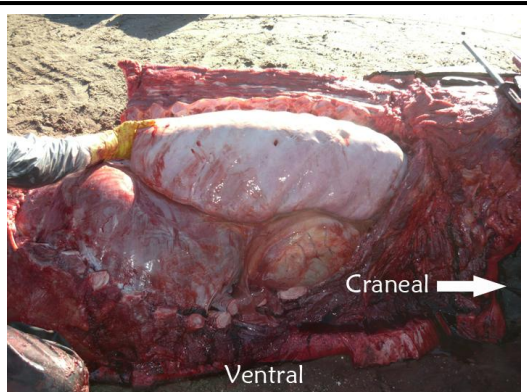


Foto 66. Cavidad torácica, mostrando pulmón derecho, corazón y diafragma en una cría varada muerta en posición ventro-dorsal.

Posteriormente, se extrae para examinarlos el corazón junto con los pulmones, o por separado en caso de órganos muy grandes. Se debe examinar el timo (Foto 70, página 45) a la entrada de la cavidad en las crías antes de extraer el sistema cardio-respiratorio.

**PULMONES:** Inspeccionar la superficie de los pulmones (Foto 67) y describir color, textura y consistencia. Luego abrir la tráquea y los bronquios para continuar con los bronquiolos y finalizar en el parénquima pulmonar (Foto 68). Notar en la trayectoria si hay presencia de líquido y describir alteraciones (por ejemplo, presencia de líquido seroso, espuma, líquido sanguinolento, aspirado gástrico, etc.). Guardar una muestra de dicho líquido para descartar que sea agua de mar. Describir color, consistencia y textura de parénquima pulmonar, así como la presencia de líquido en el parénquima (edema) o de gas (enfisema). Prestar atención a la presencia de parásitos. Para conocer si una parte o la totalidad del pulmón no presenta aire en su parénquima (por ejemplo ante la presencia de una neumonía o si el individuo no respiró al nacer,) se introduce una muestra de pulmón en formol. En tal caso, esta muestra no flotaría.

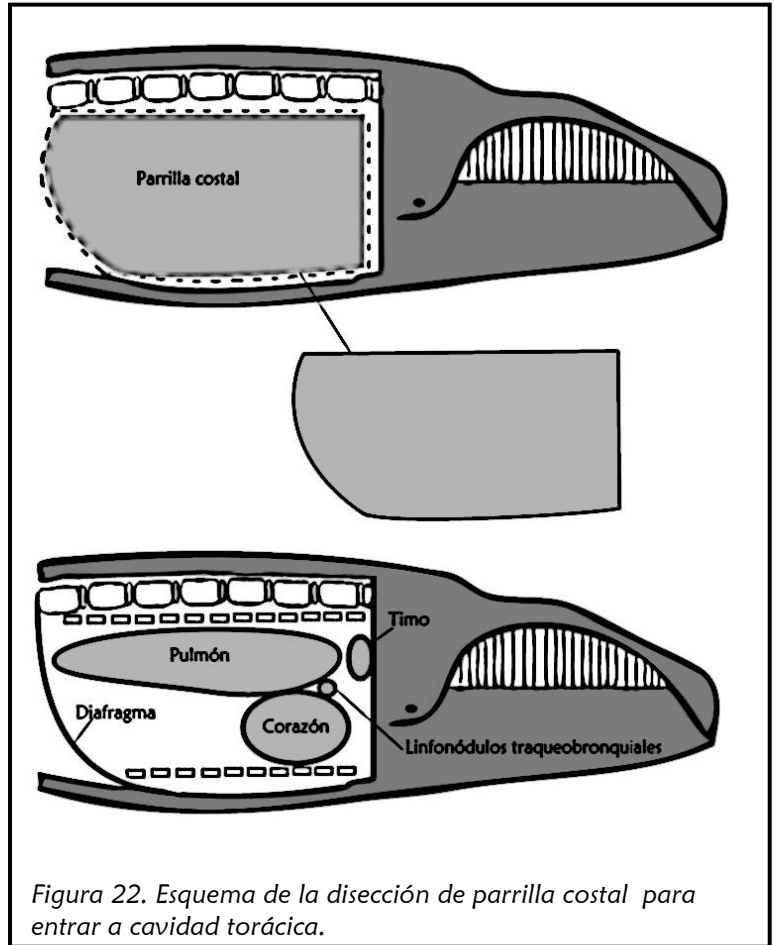


Figura 22. Esquema de la disección de parrilla costal para entrar a cavidad torácica.



Foto 67. Midiendo largo de pulmón derecho de una cría varada muerta en posición ventro-dorsal.



Foto 68. Disección de bronquios y bronquiolos del pulmón derecho de una cría varada muerta.

Si la cría tiene el cordón umbilical presente, no hay presión negativa al incidir diafragma, el pulmón no flota en formol y tiene abierto el agujero oval, entonces podríamos decir que bien no respiró al nacer o bien fue abortada.

**LINFONÓDULOS TRAQUEOBRONQUIALES:**

Se localizan a lo largo de la superficie ventral del pulmón, en la parte craneal del mismo, cerca de la bifurcación de la tráquea (ver *Figura 23*).

Identificar los linfonódulos/ganglios antes de sacar el pulmón. Examinar externamente e internamente, evaluar color de médula y corteza. Describir tamaño, color, textura y forma.

**CORAZÓN:** observar primero presencia y cantidad de líquido pericárdico y su estado para luego pasar a examinar el corazón. Notar presencia o ausencia de grasa coronaria. Examinar la vasculatura coronaria en busca de anomalías (*Foto 69*). Examinar el corazón en sentido de la circulación, comenzando por la aurícula derecha hacia el ventrículo derecho para luego entrar por la arteria pulmonar que va hacia los pulmones. Regresa de los mismos por la vena pulmonar entrando por la aurícula izquierda y luego pasa por el ventrículo izquierdo, para salir por la aorta para distribuirse por el resto del cuerpo. Notar el grosor del músculo cardíaco, sus válvulas, y, en caso de crías, buscar anomalías congénitas como el fallo en el cierre del foramen o agujero oval que se encuentra en el tabique interauricular o la comunicación interventricular. Buscar también evidencia de inflamación del endocardio (tejido engrosado, duro y de color pálido) y de las válvulas del corazón, causado por una infección sistémica bacteriana.

**TIMO:** es un órgano linfoide ubicado en la entrada de la cavidad torácica craneal al corazón. Posee 2 lóbulos, siendo el izquierdo más grande que el derecho (*Foto 70*). Se encuentra en crías y algunos juveniles y desaparece a medida que el animal madura. Se debe evaluar su forma, color y textura, tanto externa como internamente (ver *Figura 23*).

**TIROIDES:** Se encuentra ventral a la tráquea en la parte más craneal de la misma, caudal a la glotis. Es difícil de localizar e identificar, pero su color es un rojizo oscuro, parecido al del músculo. La paratiroides es más clara y se encuentra unida a la tiroides en la parte más craneal. Notar tamaño, forma, color y textura, (ver *Figura 24*).

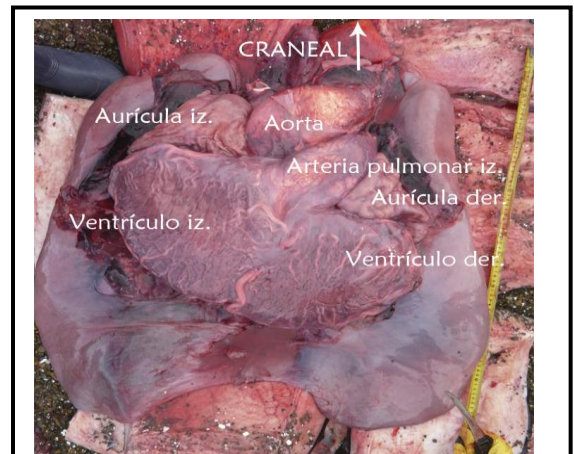


Foto 69. Corazón de cría de ballena varada muerta, vista ventral.

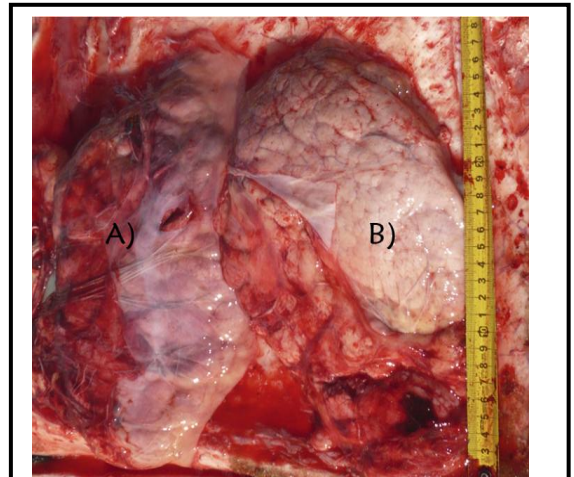


Foto 70. Timo: A) lóbulo izquierdo; B) lóbulo derecho.

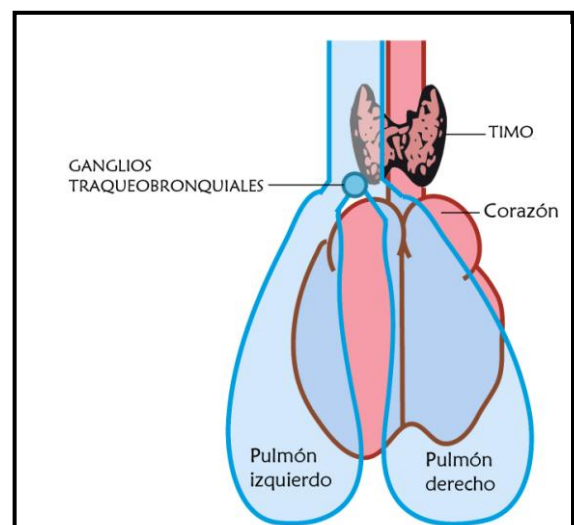
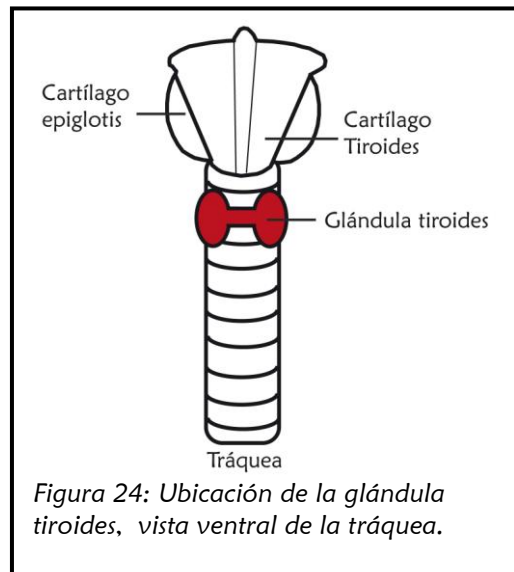


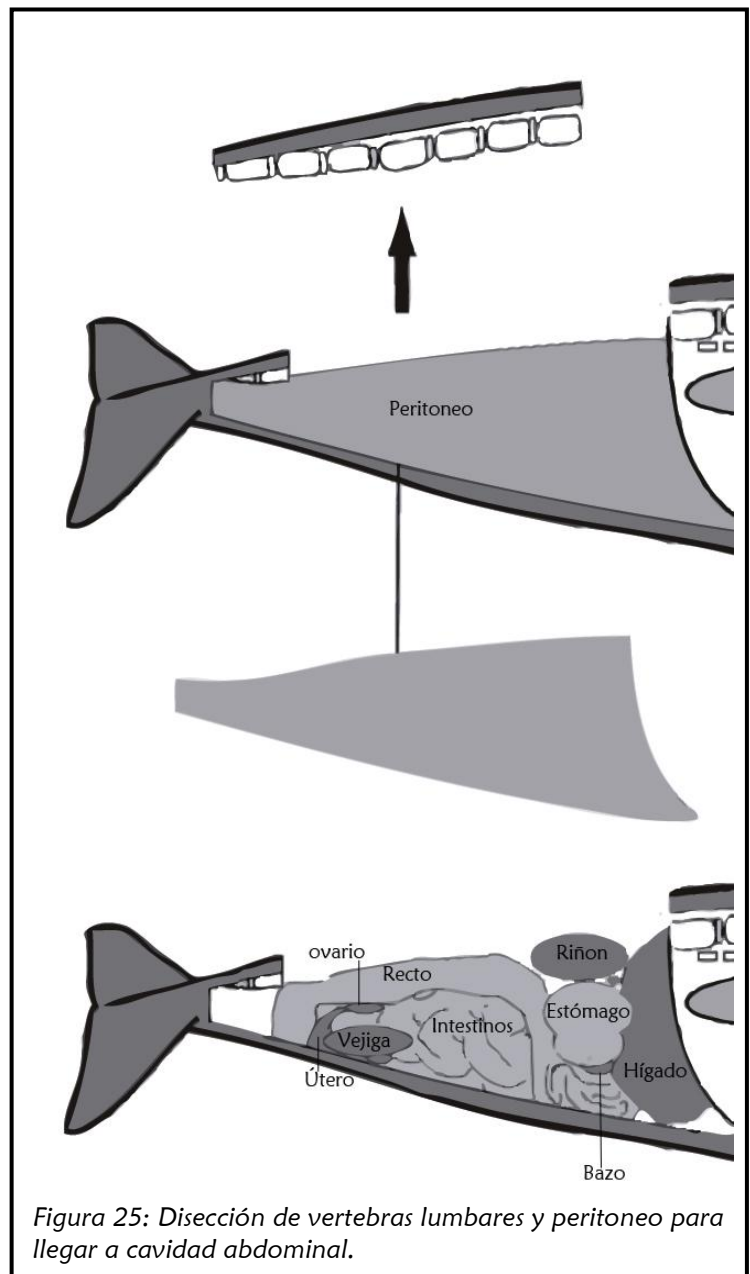
Figura 23: Ubicación de los ganglios traqueobronquiales y del timo.



## INSPECCIÓN DE LA CAVIDAD

**ABDOMINAL:** Como se mencionó anteriormente, si el animal se encuentra con el vientre hacia abajo se recomienda extraer las vértebras lumbares, ya que por el peso de las mismas, estas presionan la cavidad (Foto 71, 72, 73 y Figura 25). Una vez que se despejaron los músculos axiales como se mencionó más arriba (Pág. 40, Figura 20 y Foto 71) y el peritoneo, podemos acceder al abdomen (Foto 74 y Figura 25). Se debe evitar incidir los intestinos, ya que, si eso sucediese, todos los órganos quedarían cubiertos de contenido intestinal, limitando la inspección debido a la poca visibilidad y contaminando las muestras que deseamos tomar.

Evaluaremos primero toda la cavidad en busca de líquidos anormales, como sangre, exudados o trasudados, adherencias, u otra lesión. Posteriormente, se deben explorar los omentos y el mesenterio. Tomar muestra en caso de detectar algo anormal. Proceder a la inspección individual de órganos, comenzando por el sistema uro-genital (extrayendo





la orina primero), luego el sistema hematopoyético, para finalizar con el digestivo.



Músculo axial  
derecho diseccionado

Foto 71. Cortando entre vertebras lumbares para sacarlas de lugar. Se puede ver la zona de musculo axial ausente.



Foto 72. Cortando entre vertebras lumbares y tirando hacia arriba con los ganchos de pesca, posición del cadáver ventro-dorsal.



Foto 73. Vértebra lumbar extraída.

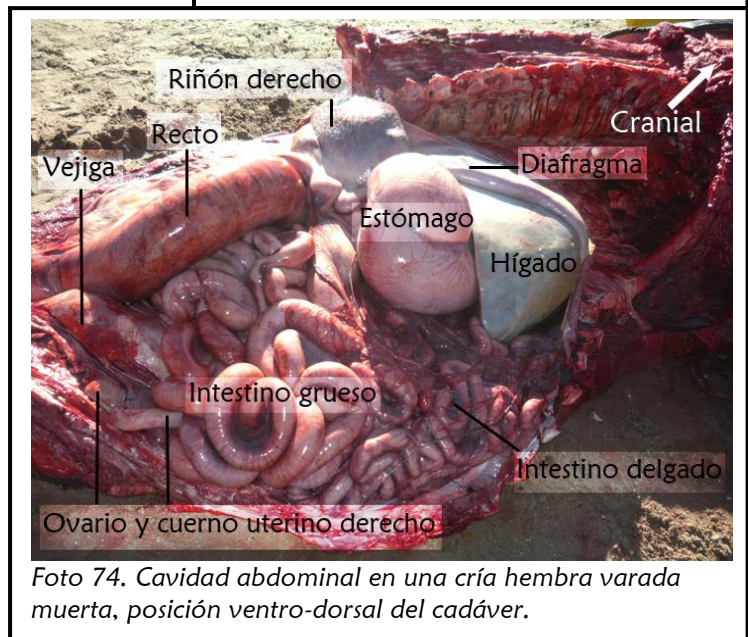


Foto 74. Cavidad abdominal en una cría hembra varada muerta, posición ventro-dorsal del cadáver.

#### SISTEMA URINARIO:

**RIÑÓN:** El riñón izquierdo se encuentra más craneal que el derecho. Evaluar primero la cápsula (Foto 74 y 75) para luego describir forma, tamaño, textura y color del riñón. El riñón en la BFA está compuesto por aglomeraciones de renículos y cada uno funciona como un riñón individual. Incidir varias veces de forma transversal (Foto 76) o longitudinal para evaluar apariencia de la corteza y médula de los renículos (Foto 77) y comparar las médulas entre renículos.

**GLÁNDULAS ADRENALES:** Las glándulas adrenales se encuentran en el polo craneal de los riñones y la mejor manera de identificarlas es ubicándolas antes de sacar el riñón de su lugar, para tenerlo como referencia (Foto 78). Medir cada adrenal y examinar médula y corteza de cada una (Foto 79). Normalmente la corteza es más clara que la médula.

**VEJIGA y URÉTERES:** Evaluar el grado de distensión de la vejiga (Foto 80) y luego sacar lo más asépticamente posible la orina (ver mas adelante en la sección de “toma de muestras internas” la manera de extraer orina, *página 54*). Evaluar color, consistencia y cantidad de orina. Luego proceder a la inspección externa e interna de la vejiga y uréteres en busca de anomalías (decoloraciones en la mucosa, tumoraciones, piedras, etc.).(Ver Foto 81).

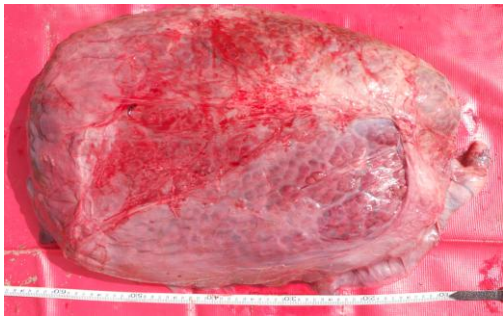


Foto 75. Riñón de una cría de ballena con su cápsula renal.

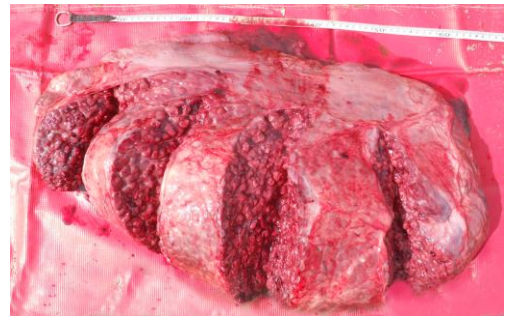


Foto 76. Cortes transversales en riñón de una cría de ballena.

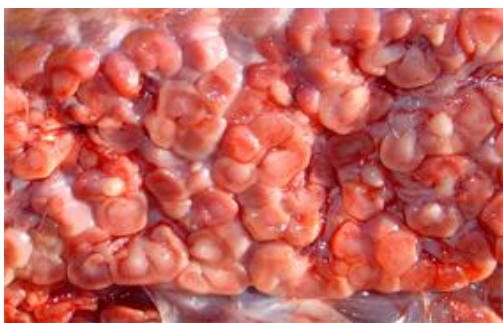


Foto 77. Corte transversal mostrando la médula y la corteza de cada renículo.



Foto 78. Posición de la adrenal derecha.



Foto 79. Adrenal derecha de una cría varada muerta.

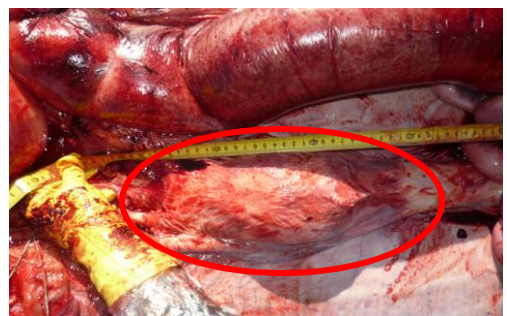


Foto 80. Vejiga contraída ubicada debajo del recto.



Foto 81. Vejiga abierta mostrando la mucosa de color rosada.

**SISTEMA REPRODUCTIVO:** En primer lugar, se debe definir el sexo. Luego se procede a la inspección minuciosa de cada órgano. Muchas veces no es posible definir el sexo en el examen externo y se define durante el examen interno. La mayoría de los cadáveres están muy descompuestos en su interior, con órganos y tejidos literalmente licuados. Sin embargo, algunas estructuras permiten su

identificación a pesar del estado de descomposición. Entre esas estructuras encontramos el cérvix y parte del útero (Foto 82) y el pene con todo el tejido conectivo que rodea la base del pene y las glándulas sexuales accesorias (Foto 83).

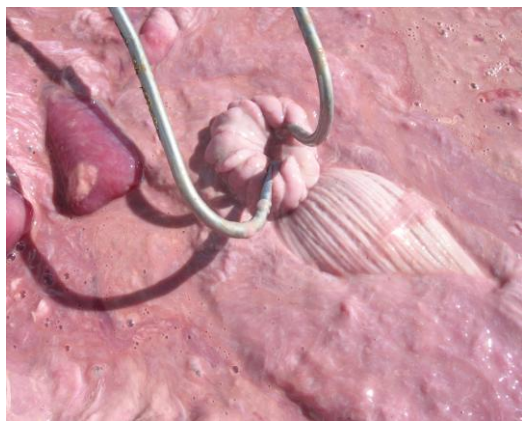


Foto 82. Cérvix conservado en un cadáver con órganos y tejidos licuados.



Foto 83. Tejido conectivo y pene conservado en un cadáver descompuesto.

**TESTÍCULOS y PENE:** describir color, textura y tamaño de ambos testículos (Foto 84), pene y glándulas sexuales accesorias tanto externamente como internamente. Realizar varias secciones transversales para su inspección y descripción.

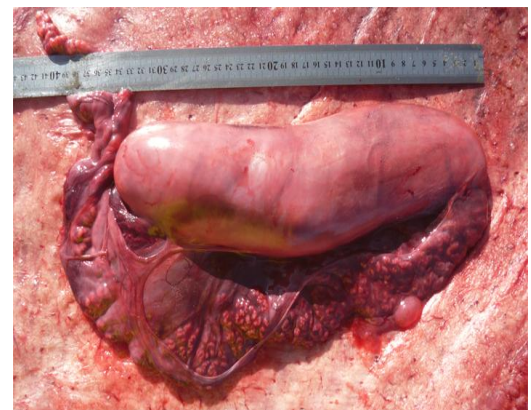


Foto 84. Testículo y epidídimo de una cría macho varada muerta.

**VAGINA Y CÉRVIX:** Realizar un corte longitudinal de la vagina y cérvix. Describir el color de la mucosa y si hay presencia de contenido anormal. El cérvix tienen 5 pliegues en forma de anillo en su interior (ver disección de los mismos en la Foto 85).

**ÚTERO Y OVIDUCTOS:** Primero realizar una inspección externa de los órganos y luego introducir unas tijeras entre la luz del útero y superficie externa o serosa para abrir longitudinalmente útero y oviductos. Describir color de la mucosa y presencia de contenido anormal (Foto 85 y 86). En animales adultos es importante buscar cicatrices uterinas como indicador de preñeces anteriores.

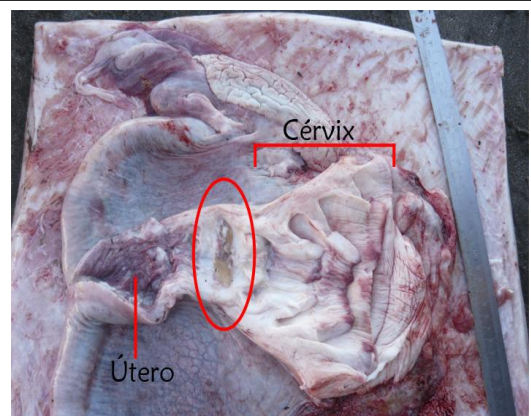


Foto 85. Cérvix abierto y sus anillos. Note el tapón de moco a la entrada del útero.

**OVARIOS:** Evaluar tamaño, superficie, color y textura. La mayoría de los individuos presentan ovarios con superficie rugosa<sup>1</sup> (como circunvoluciones, ver Foto 87). En animales adultos o juveniles es importante ver y registrar folículos, cuerpos hemorrágicos y cuerpos lúteos para ver en qué momento del ciclo se encuentran. Luego proceder a realizar un corte longitudinal para valorar internamente.

<sup>1</sup> Hasta el momento, solo se ha observado una cría con sus ovarios ovalados con superficie lisa (Foto 81).



Foto 86. Cérnix, útero, cuernos uterinos y ovarios de una cría hembra varada muerta.



Foto 87. Ovario de una cría hembra varada muerta.

SISTEMA HEMATOPOYÉTICO

**BAZO:** El bazo en las crías que miden menos de 6 metros de longitud es pequeño, rondando los 25 cm de largo, de superficie lisa, bordes redondeados y forma de “maní” (Foto 88). Se encuentra debajo del estómago del lado izquierdo del animal. Extraer el bazo y examinarlo externamente e internamente. Notar tamaño, textura y color. Algunas crías presentan bazos accesorios, que se hallan a lo largo del omento y pleura visceral del bazo dándole al bazo una forma irregular, con proyecciones tipo “dedos” (Foto 89 y 90). Cumplen la misma función que el bazo, y se desconoce por qué solo lo presentan algunas crías.



Foto 88. Bazo de una cría de ballena menor a 6 metros de longitud.

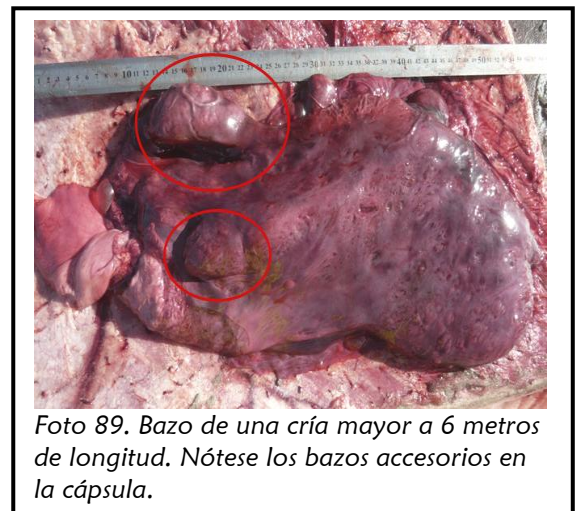


Foto 89. Bazo de una cría mayor a 6 metros de longitud. Nótese los bazos accesorios en la cápsula.

SISTEMA GASTROINTESTINAL

Antes de inspeccionar el tracto intestinal, es recomendable inspeccionar y diseccionar primero el páncreas y el hígado y finalizar con el tracto gastrointestinal ya que, una vez que se abren los intestinos, todo el contenido invadirá la cavidad.



Foto 90. Bazo accesorio en el omento de una cría varada muerta.

**HÍGADO:** Se encuentra caudal al diafragma. Primero realizar las mediciones y luego proceder a describir el color, textura y forma de la superficie (Foto 91) para luego examinar el parénquima en busca de anomalías. Realizar secciones longitudinales o transversales para su exploración interna (Foto 92 y 93). Las ballenas no poseen vesícula biliar.

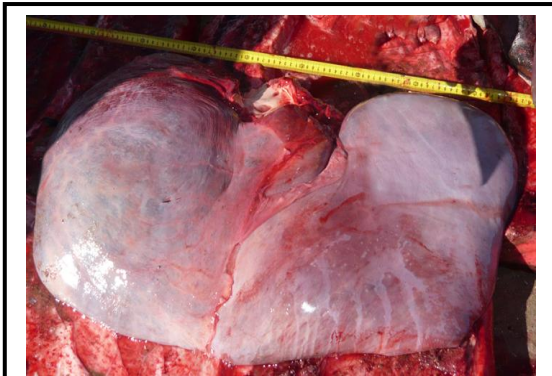


Foto 91. Hígado de una cría de ballena varada muerta.

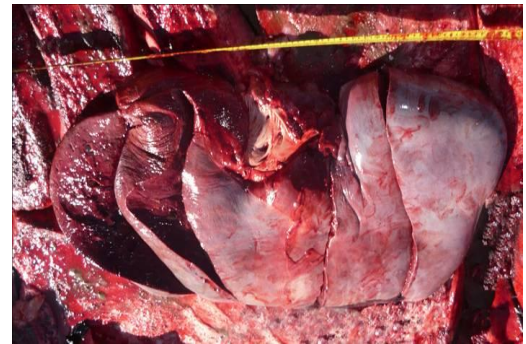


Foto 92. Hígado seccionado de forma transversal para observar el parénquima hepático.

**PÁNCREAS:** Este órgano tiene dos lóbulos que divergen de su región de unión al lado de la ampolla duodenal: uno, en la posición sagital, pasa caudal a la flexura del duodeno, y el otro, dirigido oblicuamente en dirección cefálica y a la izquierda, se encuentra en el colon ascendente y envía una prolongación al primer estómago para tocar el bazo. Examinar ambos lóbulos o ramas, (Foto 94) tanto externamente como internamente, diseccionar el conducto hepato-pancreático ubicado en la unión de ambos lóbulos en la parte dorsal e inspeccionar la presencia de tremátodos.



Foto 93. Parénquima hepático.

**ESTÓMAGO:** El estómago de las ballenas francas contiene 3 compartimientos o cámaras (Foto 95 y Figura 26). Un pre-estómago (aglandular), con mucosa blanquecina y pliegues que recuerdan a las circunvoluciones del cerebro y que es el compartimiento más grande y de mayor grosor (Foto 95 y 96); la parte fúndica del estómago, que tiene mucosa rojiza y pliegues longitudinales y transversales (Foto 96); y la parte pilórica, de mucosa rosada similar al duodeno, que es el compartimiento más pequeño y que termina en la ampolla duodenal (Foto 95 y Figura 26). Se recomienda ligar el esófago en dos lugares (a una distancia de 10 cm aproximadamente) y cortar entre las 2 ligaduras para evitar que salga contenido. Realizar la misma maniobra en el duodeno para luego proceder a sacar los 3 compartimientos del estómago. Antes de abrir longitudinalmente el estómago, realizar un



Foto 94. Vista ventral del páncreas, lóbulos del páncreas.

antes de abrir longitudinalmente el estómago, realizar un

pequeño corte en cada cámara para tomar muestras del contenido. Una vez aseguradas las muestras del contenido estomacal proceder a la disección completa para examinar internamente la mucosa de cada compartimiento, en busca de úlceras, nódulos, decoloraciones u otras anomalías. Anotar la presencia o ausencia de contenido y describir consistencia, color y cantidad del mismo.

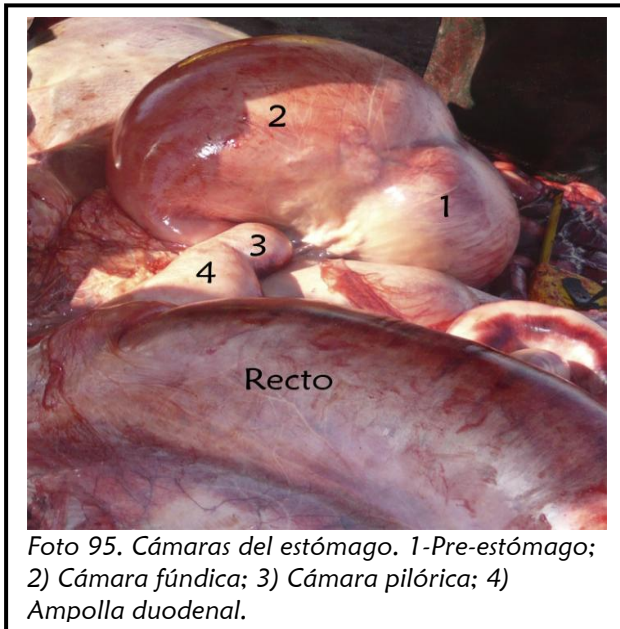


Foto 95. Cámaras del estómago. 1-Pre-estómago; 2) Cámara fúndica; 3) Cámara pilórica; 4) Ampolla duodenal.



Foto 96. Mucosa roja de cámara fúndica (izquierda) y mucosa blanquecina de pre-estómago (derecha).



Foto 97. Mucosa de pre-estómago

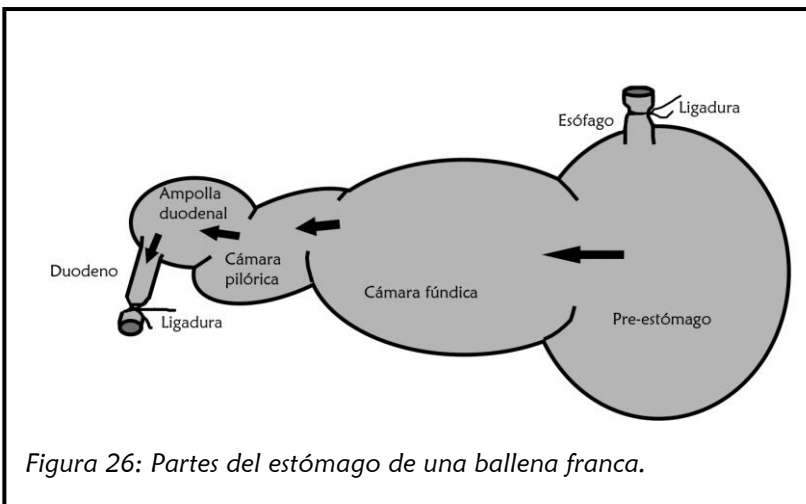


Figura 26: Partes del estómago de una ballena franca.

**INTESTINO DELGADO, GRUESO Y RECTO (Foto 98):** Examinar externamente la serosa e internamente la mucosa de los intestinos en busca de anomalías como obstrucciones, decoloraciones o perforaciones. Describir el color y la textura de la serosa y mucosa. Contenido intestinal: describir cantidad, color y consistencia del contenido. Tomar muestras de contenido tanto de intestino delgado como del grueso por separado. Omentos: examinar los omentos y el mesenterio, anotando la presencia o ausencia de grasa. Examinar los ganglios mesentéricos (Foto 99), describiendo tamaño y apariencias externa e interna. Hasta la fecha no se ha encontrado evidencias de la existencia de ciego en crías de esta especie.



Foto 98. Intestino delgado y grueso de una cría de ballena varada muerta.



Foto 99. Ganglios mesentéricos agrandados en una cría de ballena.

**SISTEMA NERVIOSO CENTRAL (CEREBRO Y CEREBELO):** Evaluar primero las meninges para determinar si están inflamadas o con hematomas, y si sus vasos están congestivos. Tomar muestras para histopatología. Luego se deben incidir cuidadosamente para examinar el cerebro (Foto 100) y el cerebelo (Foto 101), describiendo color, consistencia, tamaño y describiendo las posibles anomalías, como presencia de inflamación o hematomas. Para ver la manera de extraer el sistema nervioso central diríjase a la sección de “toma de muestras internas”, página 57.

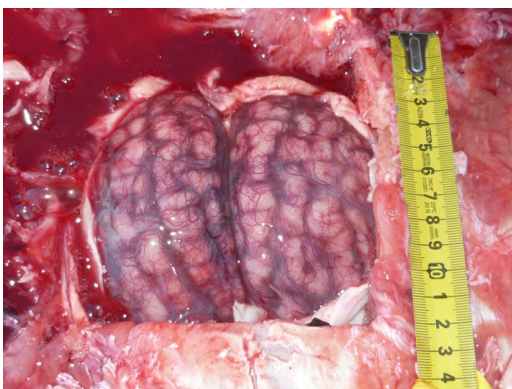


Foto 100. Hemisferios cerebrales dentro de cráneo de cría, una vez retirada la duramadre.

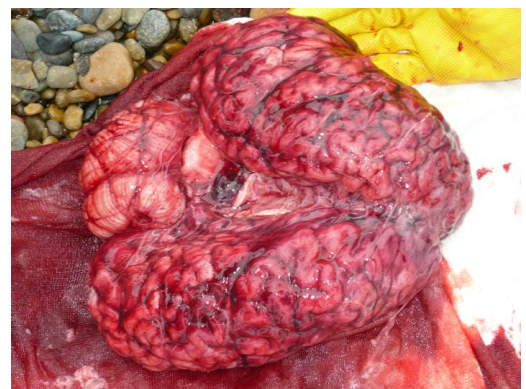


Foto 101. Cerebro y cerebelo de una cría de ballena, vista ventral.

**OÍDO:** Las ballenas francas no tienen orejas y el conducto auditivo externo no tiene abertura externa visible (ver Foto 102 y 103). Empieza su recorrido en la piel (entre 17-20 cm caudal al ojo en las crías, Foto 104) y se dirige de manera medial y craneal hasta finalizar en forma de embudo en la membrana timpánica o “glove finger” (denominada así por su forma de punta de dedo, ver Foto 105) y es ahí donde se deposita la cera que se acumula en forma de anillos (la cera se utiliza para estimar la edad). La cera se derrite rápidamente una vez muerto el animal por el calor interno producido por la descomposición. Su hallazgo sería posible en animales recién muertos. El oído está formado por 2 huesos o bullas redondeadas, el timpánico y el periótico localizados lateralmente a los cóndilos occipitales en una cavidad formada por el hueso escamoso (borde dorsal y lateral) y el hueso

exoccipital (borde posterior), *Figura 27 y 28 y Foto 106 y 107*. El hueso timpánico aloja los huesos del oído medio, cuerpo cavernoso y la membrana timpánica. La membrana timpánica está formada por dos porciones: una de estructura fibrosa y de forma triangular (*Foto 107*), el ligamento timpánico, y otra en forma de saco o embudo, la membrana timpánica sensu stricto ("glove finger", *Foto 105*) ubicada en el borde lateral de la bulla timpánica. El hueso periótico, ubicado dorsalmente al timpánico contiene el oído interno.



Foto 102. Conducto auditivo externo.

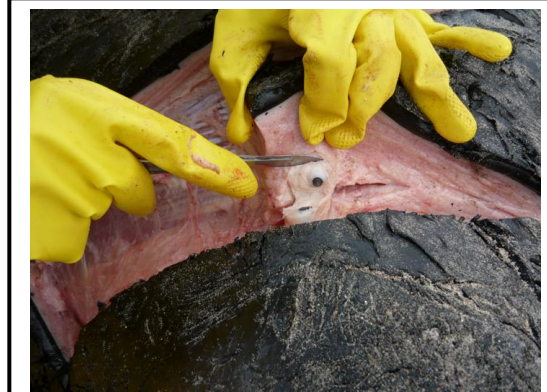


Foto 103. Disección del conducto auditivo externo. Nótase el epitelio oscuro que recubre el interior del canal.

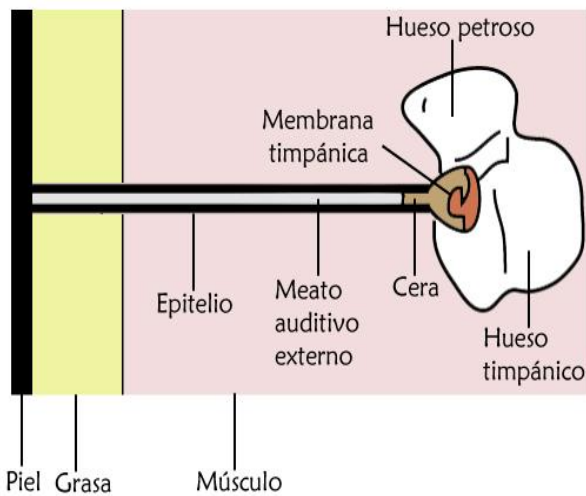


Figura 27: Esquema del oído de las ballenas.



Foto 104. Ubicación externa no visible del conducto auditivo externo.



Foto 105. Membrana timpánica o "glove finger", en forma de punta de dedo.



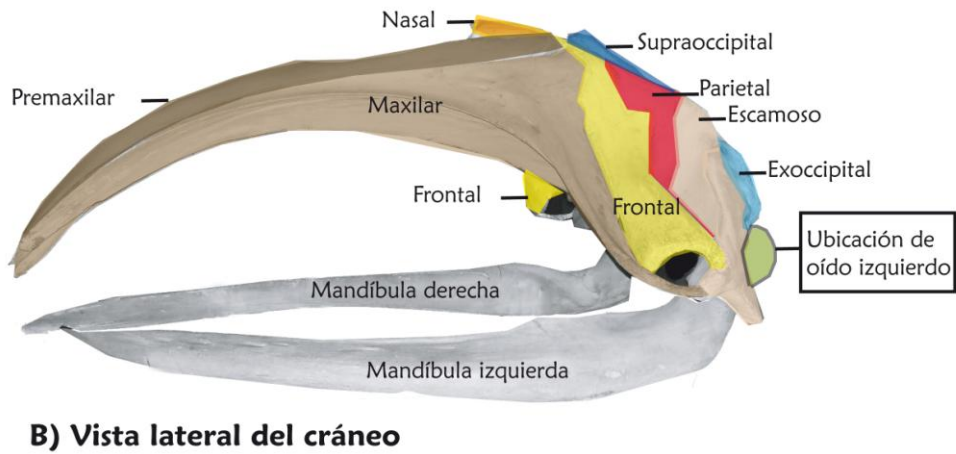
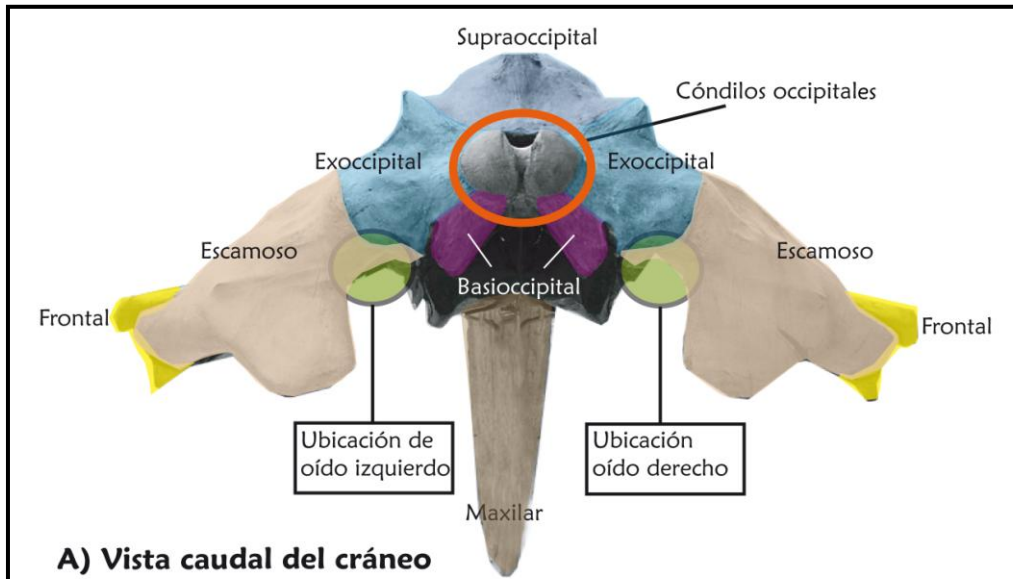


Figura 28. Huesos del cráneo una ballena franca y la ubicación del oído.

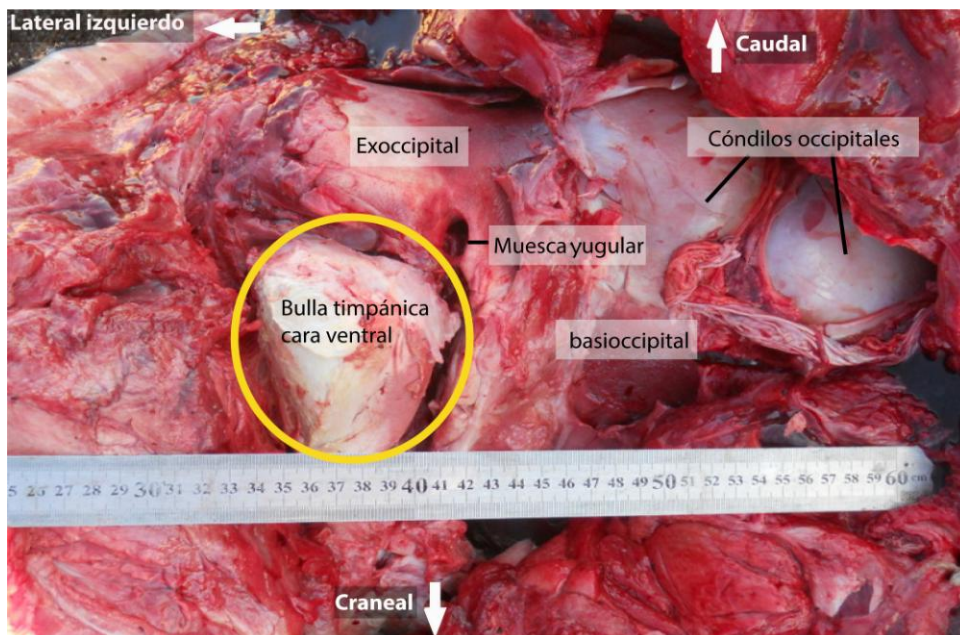


Foto 106. Ubicación de bulla timpánica en una cría de ballena en posición dorso-ventral.

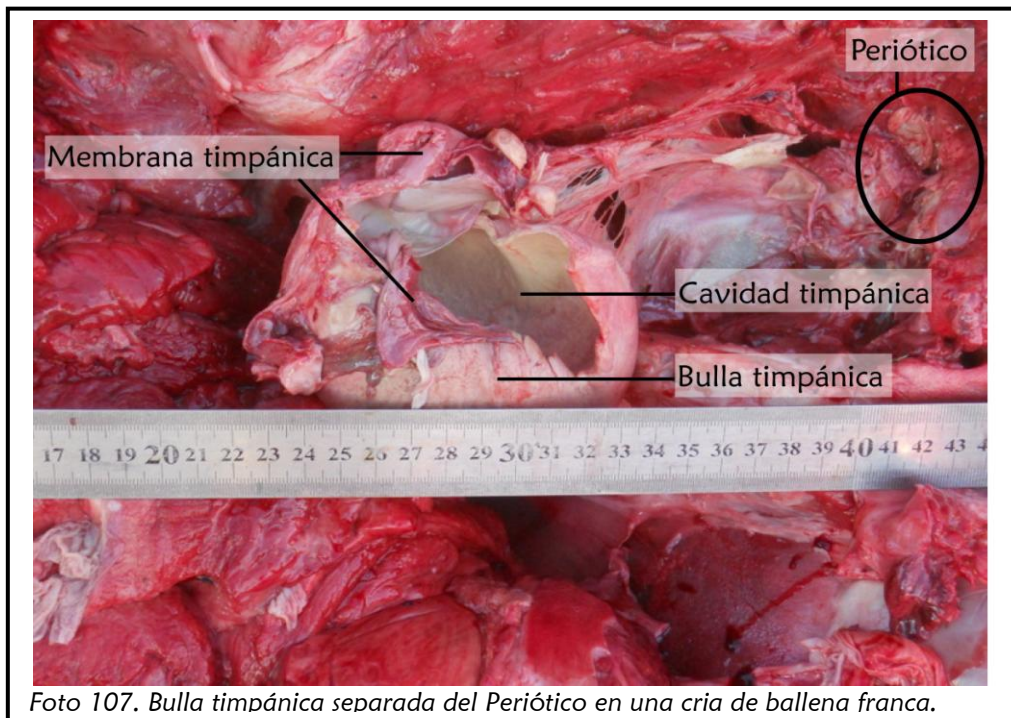


Foto 107. Bulla timpánica separada del Periótico en una cria de ballena franca.

## IX. TOMA DE MUESTRAS INTERNAS

Si la condición interna es fresca (condición 2 ó 3), se debe tomar muestras de **TODOS** los órganos y tejidos, contenido intestinal, estomacal y orina (Foto 107). Ver listado de muestras a tomar para el año 2013 en ANEXO 11.

Las muestras internas que se toman, su finalidad y su modo de conservación pueden variar cada año. En el caso del año 2013 se tomaron las siguientes:

- **Tejidos de todos los órganos:** para análisis histopatológico. Guardar muestra de 1x1 cm en frasco hermético con formol bufferado al 10% o si son muestras más grandes realizar cortes cada cm para permitir una buena fijación del formol (ver planilla de muestras para histopatología en ANEXO 10, tomar preferentemente los tejidos marcados en negrita).
- **Grasa, sangre, músculo:** para determinación de patrones y zonas de alimentación y el posible impacto del calentamiento global. Introducir muestra en bolsa ziploc o viales y guardar en conservadora para luego congelar a  $-20^{\circ}$  C.
- **Grasa, leche, orina:** para estudiar los ácidos grasos para determinar con qué se alimentaron las ballenas y dónde, y su estado nutricional. Introducir la grasa en bolsa ziploc y guardar en conservadora para luego congelar a  $-20^{\circ}$  C.



Foto 107: Guardando grasa en bolsa ziploc.

- **Grasa:** para la determinación de contaminantes ambientales. Tomar muestras grandes (si es posible de 10x 10 cm x el espesor de la capa de grasa) para que luego en el laboratorio eliminen la capas externas contaminadas. Al extraer esta muestra, usar cuchillos limpios y evitar que se contamine con arena. En caso de ensuciarse la muestra, descartarla y tomar otra muestra. Envolver la muestra en papel aluminio y guardar en bolsa tipo ziploc colocando en conservadora para luego congelar a -20° C.
- **Ganglios linfáticos, bazo, gónadas, pulmón, cerebro, placenta y tejidos y membranas fetales:** para detección de *Brucella spp.* Guardar muestras en bolsas tipo zip-loc y guardar en conservadora para luego congelar a -20° C.
- **Hígado, riñón, contenido gástrico, pared gástrica, leche, heces, orina, cerebro, intestino, contenido intestinal:** para determinar presencia de biotoxinas de marea roja. Guardar muestras en bolsa whirlpack o crioviales y guardar en conservadora para luego congelar en nitrógeno líquido.
- **Hígado, riñón, cerebro, músculo esquelético, corazón, testículo:** para genética. Guardar muestras de 1 gramo (2x2 cm) en conservante RNAlater y congelar a 20 °C
- **Hígado, riñón, grasa:** para análisis de metales pesados. Tomar muestras grandes (si es posible de 10x10x10 cm) para que luego en el laboratorio eliminen la capas externas contaminadas. Al extraer estas muestras se debe evitar que se contaminen con la arena y se deben usar cuchillos limpios. Guardar muestras en bolsas tipo ziploc y guardar en conservadora para luego congelar a -20° C.
- **Hígado, heces, contenido intestinal:** detección de toxinas. Guardar muestras en bolsas whirlpack y guardar en conservadora para luego congelar en nitrógeno líquido
- **Hígado, riñón, ganglios linfáticos, bazo, pulmón, cerebro, sangre, líquido cerebroespinal, corazón, hisopados virológicos y bacteriológicos:** para detectar patógenos mediante técnicas moleculares. Guardar muestras de hígado, riñón, ganglios linfáticos, bazo, pulmón, cerebro en bolsas whirlpack y la sangre e hisopados en crioviales y congelar todo en nitrógeno líquido. Tomar también una muestra pequeña de cada uno (0,5x0,5 cm) en vial con conservante RNAlater (proporción 1:10) y congelar a -20° C.
- **Hígado, ganglios linfáticos, músculo esquelético, cerebro, corazón:** para detectar presencia de protozoos. Guardar muestra pequeña de 2x2 cm en vial de 5 ml y congelar a -20° C.
- **Riñón:** Para la detección de leptospiras. Guardar muestra en bolsa whirlpack y guardar en conservadora para luego congelar en nitrógeno líquido.
- **Contenido estomacal, intestinal y heces:** para identificación de plancton en ballenas adultas y juveniles. Guardar una muestra de cada una en frasco de 50 ml y conservar con formol al 10% y también guardar una muestra de cada una en vial de 50 ml y congelar a 20° C.
- **Orina:** para determinar estado nutricional y fisiológico mediante análisis químicos y físicos de la orina, para análisis de ácidos grasos, isotopos estables y dieta. Las tiras reactivas proporcionan un medio rápido y simple para llevar a cabo el análisis químico de la orina (ver Foto 108). Este análisis abarca pH, presencia de proteína, glucosa, cetonas, hemoglobina, bilirrubina, urobilinógeno, nitrito, leucocitos y densidad. Las tiras reactivas constan de una tira de plástico con varias almohadillas impregnadas de sustancias químicas que reaccionan con los compuestos presentes en la orina produciendo

un color característico, brindando un resultado semicuantitativo, expresado usualmente como trazas, 1+, 2+, 3+ y 4+. En las áreas de prueba también se dispone de una estimación en miligramos por decilitro (mg/dL) (ver Foto 108). La metodología de la prueba consiste en sumergir por completo la tira reactiva durante un corto período de tiempo, en una muestra bien mezclada de orina; a continuación se extrae del recipiente apoyando el borde de la tira sobre la boca del recipiente para eliminar el exceso de orina (Foto 109) y se recomienda secar el borde de la tira sobre papel absorbente para que no se mezclen los colores de las almohadillas (Foto 110). Realizar el análisis químico in-situ y registrar los resultados de inmediato en la planilla de necropsia (Foto 111). Tomar 2 muestras de orina en 2 viales o tubos de 10 ml, guardar en conservadora y posteriormente, en un caso de poseer microscopio, centrifugar la orina para la evaluación física microscópica del sedimento urinario y hacer las tinciones necesarias (se puede enviar también a un laboratorio veterinario comercial). Para el resto de los análisis tomar muestras de orina en crioviales y congelar en nitrógeno líquido.



Foto 108: Tiras reactivas de orina.



Foto 109: Sacando tira reactiva tocando borde del frasco para eliminar resto de orina.

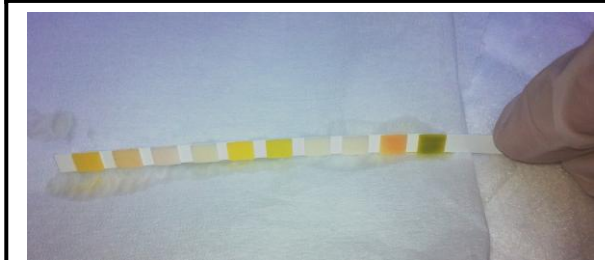


Foto 110: Secando exceso de orina con papel.



Foto 111: Lectura de tira in-situ.

### Recomendación de cómo extraer orina:

La orina se puede extraer asépticamente de dos maneras: introduciendo en la vejiga una aguja 18G x 3 1/2" y extrayendo el contenido; o de la siguiente manera: mientras una persona levanta la vejiga insertando dos



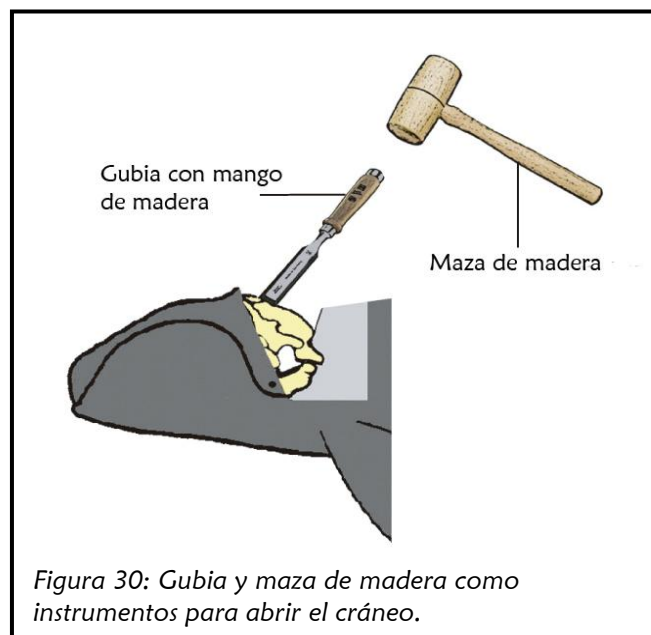
Foto 113: Orina recolectada asépticamente de una cría.



Foto 112: Recolección de orina en la vejiga.

ganchos (de pesca) en la serosa, en los extremos de este órgano, otra persona realiza un corte con un cuchillo limpio o bisturí hasta llegar a la mucosa. Inmediatamente, se extrae la orina con una jeringa estéril para introducirla en un vial estéril (ver Foto 112 y 113).

**Recomendación de cómo extraer cerebro:** Primero se debe despejar el área del cráneo, diseccionando piel y grasa y posteriormente todos los músculos adyacentes hasta llegar al cráneo (Figura 29). Para abrir una ventana en este hueso se usan gubias de diferente ancho de hoja y una maza. No usar maza de goma ya que rebota contra el hueso (Figura 30). En las crías, el área del cráneo en donde se debe realizar la apertura es sobre el hueso supraoccipital (ver Figura 28) y se distingue de los huesos del maxilar por su delgado grosor. Se encuentra a la altura de los ojos. Además, al golpear el área del cráneo, resuena a hueco. Una vez abierto el cráneo se disecciona la duramadre con una tijera con punta roma o cuidadosamente con el cuchillo para poder ver el cerebro. Una vez extraído todo el cerebro, valorar la duramadre que queda adherida al cráneo y el resto de las meninges que se encuentran sobre el cerebro extraído y tomar muestras correspondientes para histopatología. Se toman muestras de cerebro y cerebelo si la condición de necropsia de la ballena muerta es 3. Si el encéfalo se encuentra en condición 2, se introduce todo el encéfalo dentro de una bolsa zip-loc, procurando mantener sus estructuras. La bolsa se rellena con formol al 40% y se cierra con un nudo o precinto. Para evitar pérdidas de formol se debe usar preferentemente 3 bolsas y luego al regresar del campo se recomienda introducir dichas bolsas dentro de un recipiente hermético.



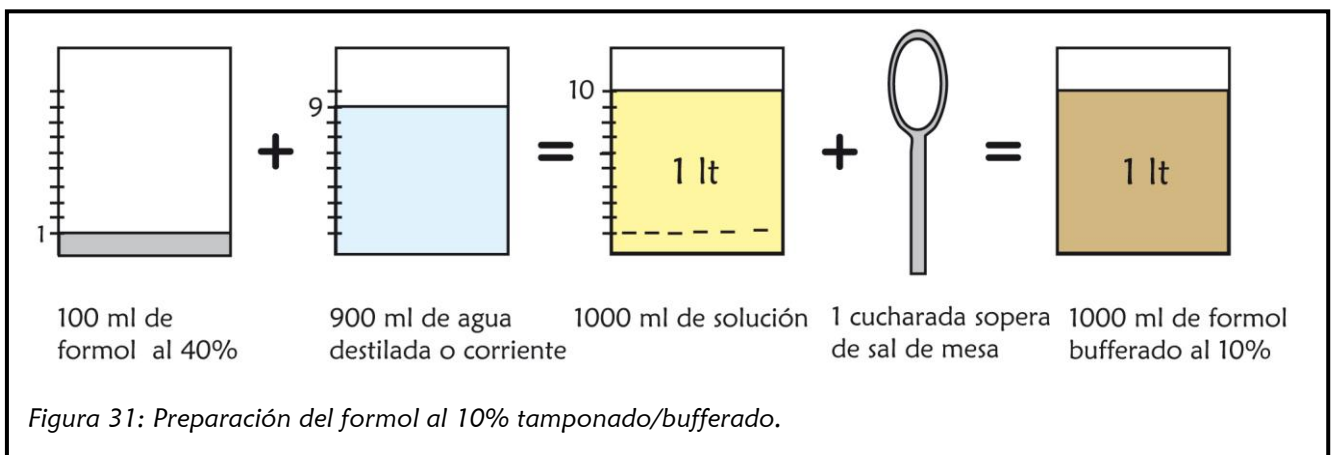
## X. ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS EN EL CAMPO

La toma de muestras, su almacenaje y registro en las planillas es una tarea que requiere buena coordinación del equipo de trabajo. Al tomar una gran cantidad de muestras de un animal fresco para distintos fines hay que ser metódico y ordenado, y se debe consultar

constantemente el listado de muestras a tomar para no olvidar ninguna (ver listado de muestras utilizado por el PMSBFA en el año 2013 en ANEXO 11). También se debe comprobar que ninguna muestra quede mal rotulada. En cuanto una muestra se recolecta y se guarda en la conservadora se debe registrar en la planilla como muestra tomada. Se debe corroborar al finalizar la necropsia que se hayan tomado todas las muestras necesarias. Una vez de regreso, se debe volver a comparar los rótulos con la planilla antes de guardarlas y comprobar que estén bien cerradas. La toma de muestras la coordina el planillero, quien va dictando a quienes hacen la necropsia cuáles muestras tomar. A su vez, quienes diseccionan y van colectando las muestras le dictan al planillero las muestras que se van tomando y el que recibe las muestras y las rotula (generalmente el planillero), las confirma.

### Muestras en formol

- Usar frascos con tapa a rosca (herméticos) de 250 ml. En una ballena se toman varias muestras por lo que se requiere de varios frascos para mantener una proporción tejido: formol de 1:10 para una adecuada fijación.
- Rotular doble, tanto en la parte externa del frasco con marcador indeleble, como en un papel duro con lápiz que se introduce en el interior del vial junto a la muestra.
- Usar formol tamponado neutro al 10%. Para preparar formol bufferado al 10% (Figura 31), se deben seguir los siguientes pasos:
  - el formol que se vende comercialmente (al 40%) se considera como al 100%
  - diluir con agua destilada (preferentemente) o agua corriente, 1 parte de formol al 40% en 9 partes de agua para obtener una solución al 10%.
  - Agregar 9 gr (una cucharada sopera) de sal de mesa por cada litro de solución preparada y mezclar bien. Si es posible, pesar la sal con una balanza digital.



- Tamaño de la muestra con y sin lesión: las muestras deben ser delgadas (de 0,5 a 1 cm de espesor). Introducir la muestra en frasco con formol. Se debe manipular lo menos posible la muestra, ejerciendo poca presión con los cuchillos, fórceps, manos, etc.
- Comprobar que esté bien cerrado.
- Se debe cambiar formol una hora después o al regreso para garantizar la correcta fijación. Si en los días subsiguientes se observa que el formol continúa turbio, cambiar el formol por completo las veces que sea necesario hasta que quede traslúcido.
- Es importante ir anotando en la planilla cada muestra y su cantidad según se va tomando para evitar confusiones. Se recomienda utilizar clips con papel para identificar cada

muestra individual para facilitar la tarea del patólogo, especialmente para diferenciar si un tejido pertenece al órgano derecho o izquierdo. Otra opción es usar cassettes individuales.

- h) Al regresar, almacenar frasco dentro de una bolsa hermética dentro de una caja cerrada, (ver Foto 114).
- i) Como el formol se evapora, revisar periódicamente los frascos almacenados para rellenar aquellos que lo necesiten.

El formol a descartar se guarda en envases de plástico herméticos y se mete en bolsas de plásticos para descartarla posteriormente mediante una empresa de residuos patológicos especializada (SER-ES, Servicios Especiales de Juan González y Esteban Berón, SRL; teléfonos: 0280-4446338/4446892; o llevarlas al CENPAT, Centro Nacional Patagónico de Puerto Madryn.) En caso de un derrame accidental, absorber inmediatamente con toallas de papel, tierra o arena e introducirlo asimismo en un envase hermético para su descarte. Existen productos comerciales que neutralizan el formol para su descarte en la basura convencional como

por ejemplo *Transform™* ([enlace](#)), que neutralizan el formol en dióxido de carbón y agua en pocos minutos. Los hay en forma de paquetes de cristales secos (para neutralizar formol en envases), gránulos (para neutralizar formol derramado sobre superficies, convirtiendo el producto final en grumos para facilitar la recogida) y en spray para neutralizar vapores de formol dentro de habitaciones. Otra opción es usar polvo de sodio sulfito (100 gr de este producto neutraliza 1litro de formol al 40%). No descartar formol o el producto neutralizado en cañerías comunes ni en cursos naturales de agua o en la tierra.



Foto 114: Frascos con muestras en formol dentro de bolsas herméticas dentro de caja.

## Muestras en alcohol 95 o 96%

Aquellas muestras destinadas a genética se conservan generalmente en alcohol etílico al 95%. Lo ideal es usar alcohol absoluto y llevarlo a 95 o 96% con agua destilada para evitar impurezas. Los viales que contienen alcohol se deben rotular con lápiz en lugar de marcador indeleble, ya que al abrir o cerrar el vial éste puede perder alcohol y se puede borrar el rótulo. Lo ideal es rotular doble, como en el caso de los tejidos en formol (poner un papel tipo secante con el rótulo en lápiz en el interior del vial, y rotularlo también por fuera del vial). Comprobar que los viales estén bien cerrados antes de guardar.

## Muestras en frío conservadas en nitrógeno líquido

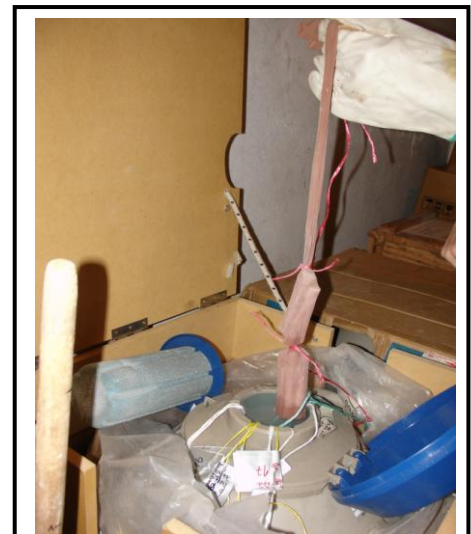
En este caso se requiere de envases especiales que resistan la congelación a -196° C. Para líquidos se usan crioviales, y los hay de diferentes medidas. Para tejidos se usan bolsas whirlpack, de las cuales también hay diferentes tamaños. Se pueden comprar con o sin área de escritura, pero se recomienda con área de escritura (<http://www.labware-qc.com.ar>). Rotular doble con marcador indeleble (usar preferentemente crio-marcadores) y con lápiz.

Idealmente, para los tejidos se debe usar doble bolsa ya que existe el riesgo de que exploten al tomar contacto con el nitrógeno o al tomar contacto con la temperatura ambiente al sacar las muestras del tanque. El método de envolver la muestra en bolsa whirlpack se explica en la *Figura 32*. En el campo, guardar las muestras que requieren de frío en las conservadoras que tienen geles refrigerantes y colocar a la sombra. En caso de no tener sombra, hacerla con las mochilas. Al regresar del campo, estas muestras se deben guardar inmediatamente en el tanque de nitrógeno, corroborando de nuevo los rótulos con la planilla de necropsia antes de meterlos al tanque.

### Tanque de nitrógeno

Cuando se necesita maximizar el espacio dentro de un tanque de nitrógeno resulta práctico sacar las canastillas de acero para aprovechar mejor el espacio. En este caso, se recomienda el uso de medias de lycra de buena calidad, en las cuales se introducen las muestras. Se pone una cantidad de 4 ó 5 whirlpack ó 4 ó 5 crioviales (dependiendo del ancho de la boca del tanque) en la media. Sobre estas muestras, se anuda la media con hilo de nylon multifilamento grueso (no muy fuerte), dejando en los cabos unos 4 cm (esto ayudará a la extracción de la media). Sobre el nudo realizado se colocan nuevas muestras, repitiendo el procedimiento unas 5 veces o más dependiendo del largo de la media, como si fuese un chorizo (ver *Foto 115* y *Figura 33*). Al realizar el último nudo, se deja unos 60 cm. de hilo que sobresalga fuera del tanque atado a las manijas del tanque. Para que el termo se mantenga hermético hay que ubicar los hilos de las medias en las canaletas de la boca y tapa del termo. Para líquidos, recordar de dejar 0,5 ml libres en el vial o hasta la marca indicada, ya que el líquido se expande y, de lo contrario, explotaría el vial. Ajustar bien la tapa a rosca. Rotular las muestras doble y además rotular con una cinta americana el extremo del hilo que sostiene la media con las muestras en forma de "chorizo" con el ID del animal para encontrar fácilmente las muestras en el momento del envío.

Idealmente se deben usar tanques de 30 litros para poder cargarlos fácilmente entre dos personas. Los factores que afectan la vida útil del nitrógeno son: la temperatura ambiente (a mayor temperatura, mayor evaporación del nitrógeno); cantidad de veces que se abre el tanque; ancho de la boca; y cantidad de las muestras. Se debe comprobar cada semana el nivel de nitrógeno durante la temporada de trabajo, y fuera de la misma, cada dos semanas (ver *Foto 116*). Generalmente un tanque de 30 litros dura de entre un mes y medio a dos.



*Foto 115: Sacando media con muestras en crioviales del tanque.*



*Foto 116: Midiendo nivel de nitrógeno líquido con un palo de madera.*





## Muestras en frío para congelar a -20° C

Se conservan en cualquier bolsa hermética (tipo ziploc) o frascos/viales de plástico herméticos que resistan el frío. Rotular doble. Comprobar que queden bien cerrados. Usar en lo posible doble bolsa. Guardar en la conservadora que contienen geles refrigerantes y dejar la conservadora en la sombra durante el trabajo de campo. Una vez de regreso, guardar inmediatamente en freezer. Corroborar rótulos con la planilla de necropsia (Foto 117) y comprobar de nuevo que los viales, frascos o bolsas estén bien cerrados antes de introducirlas en el freezer.



Foto 117: Corroborando rótulos de muestras a congelar en la planilla de necropsia.

## Muestras en buffer de lisis *RNAlater*

Las muestras conservadas en RNAlater ([enlace](#)) tienen que ser de 1-2 mm para una adecuada fijación, a una proporción de 1 parte de muestra en 9 partes de RNAlater y se colocan en viales pequeños tipo eppendorf. Las muestras en RNAlater requieren de congelación a -20° C.

## RESUMEN DE MUESTRAS Y DATOS QUE SE PUEDEN OBTENER DE LAS BALLENAS MUERTAS SEGÚN SU CONDICIÓN DE DESCOMPOSICIÓN

Tipo de datos o muestras	Condición de necropsia			
	2	3	4	5
Morfometría	x	x	x	x
Historia de vida	x	x	x	x
Genética	x	x	x	x
Medidas grasa	x	x	x	-
Histología y citología	x	L	L	-
Análisis de sangre (hemograma y bioquímicas)	x	L	-	-
Tejidos para metales pesados	x	x	x	-
Parasitología	x	x	-	-

Hisopados de hendiduras naturales para cultivo virológico o bacteriano	x	-	-	-
Virología y microbiología por PCR	x	x	x	-
Biotoxinas	x	x	x	-
Tejidos para estudios toxicológicos	x	x	-	-

L: limitado.

## ENVÍO DE MUESTRAS Y PERMISOS

### AL INTERIOR DEL PAÍS

Se requiere sólo de la guía de tránsito que es otorgada por la Dirección de Fauna y Flora Silvestre de la Provincia de Chubut ([enlace](#)). Es necesario pedirla con una antelación mínima de 72 hrs y la gestión se realiza por mail o teléfono pero además hay que enviar la nota de solicitud por correo postal. Las guías de tránsito tienen una validez de 10 días a partir de la fecha de emisión.

### AL EXTERIOR DEL PAÍS

La Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES, <http://www.cites.org/>) es un acuerdo internacional que tiene por finalidad controlar el comercio y traslado internacional de especímenes de animales y plantas silvestres. En este marco, toda importación o exportación de especies o subproductos de especies amparadas por la Convención debe contar con permiso CITES expedido por la autoridad CITES de cada país. En Argentina la Autoridad de Aplicación CITES es la Secretaría de Recursos Naturales y Desarrollo Sustentable (SRNyDS) (Decreto 522/97 que reglamenta la Ley 22344) y la Autoridad Administrativa es la Dirección de Fauna y Flora Silvestres de la DRNyDS. Esta última es la encargada de otorgar los permisos de exportación e importación de productos y subproductos de especies incluidas dentro de los apéndices CITES. Los apéndices CITES son tres, según el grado de protección que necesiten las especies. Las ballenas del género *Eubalaena*, entre ellas la franca austral, se encuentran en el Apéndice I. Por lo tanto, para exportar muestras de ballena franca austral se requiere de permisos CITES (tanto de EXPORTACIÓN del país de origen de las muestras, como de IMPORTACIÓN del país receptor).

Por otro lado, son necesarios otros tipos de permisos y trámites para la exportación de muestras, incluyendo los certificados otorgados por la Dirección de Fauna Silvestre de la Nación y la Dirección de Ordenamiento Ambiental y Conservación de la Biodiversidad, certificado sanitario del SENASA y gestión aduanera. Los requeridos en la actualidad se mencionan a continuación, y se recomienda que en caso de necesitar exportar muestras de BFA se contacte previamente a las autoridades de aplicación y las instituciones involucradas del país exportador e importador, para tener conocimiento actualizado de los requisitos y etapas del proceso. El trámite de estos permisos puede llevar bastante tiempo, por lo que se sugiere iniciar las gestiones con un mínimo de 1 a 2 meses de anticipación.

**a) PERMISOS DE IMPORTACIÓN (país receptor):**

Para importar muestras de mamíferos marinos a Estados Unidos, se requiere el CITES de IMPORTACIÓN otorgado por el US National Marine Fisheries Service (NMFS) y un permiso específico para la colecta de muestras de mamíferos marinos, también proporcionado y autorizado por el US NMFS. Estos permisos deben estar acompañados por una carta que autorice a las personas/instituciones que van a hacer uso de ellos para ingresar las muestras a los Estados Unidos. Deben estar vigentes al momento de iniciar los trámites en Argentina.

Una vez obtenidos todos los permisos de Argentina para realizar la exportación, se debe completar el Formulario 3-177 (ver ANEXO 12) del US Fish & Wildlife Service y se debe contactar al inspector de Aduana de Estados Unidos vía mail hasta 72 hs previo a la llegada de las muestras. Además del formulario 3-177 se debe enviar por mail el ticket del pasajero, inventario de muestras (ANEXO 13), Permiso NMFS, Permiso Fauna Nación, Permiso Biodiversidad, certificado sanitario de SENASA, CITES de EXPORTACIÓN e IMPORTACIÓN y carta donde autorizan el uso del CITES de IMPORTACIÓN. En algunos casos pueden ser necesarios también permisos del servicio de agricultura de los estados unidos “USDA”.

**b) PERMISOS DE EXPORTACIÓN:**

Para exportar muestras se requieren los siguientes permisos: a) guía de tránsito otorgado por la Dirección de Fauna provincial; b) certificados otorgados por la Dirección de Fauna Silvestre de la Nación y la Dirección de Ordenamiento Ambiental y Conservación de la Biodiversidad; c) permiso de exportación CITES; d) certificado sanitario del SENASA (Servicio Nacional de Sanidad animal) y e) trámites de Aduana. A continuación se detalla un resumen de los mismos:

Permiso	Ti	Td	Principales documentos a presentar	Coste (\$)	Lugar donde se realiza
a) Guía de tránsito	3	10	Un documento con la descripción detallada de las muestras (nro. y tipo de muestra y forma de conservación), información del transportador, del receptor y lugar de depósito temporario.	No tiene	Vía mail a la Dirección de Fauna y Flora Silvestre de la provincia Chubut ( <a href="mailto:dfyfschubut@gmail.com">dfyfschubut@gmail.com</a> ) y por escrito a la dirección: Luis Costa N° 238, Rawson (CP 9103). Teléfono: (54) (280) 4482688
b) Fauna Nación, CITES exportación y Biodiversidad	30	160	1) Nota solicitando el permiso de exportación, explicando el motivo del mismo. 2) Copia del proyecto de investigación y/o resultados. 3) Guía de tránsito original, 4) Permisos de importación (CITES IMPORTACIÓN, carta del NMFS que autoriza el uso del CITES, permiso NMFS), 5) Formulario EXPO-IMPO de Fauna por cuadruplicado (ver ANEXO 13), impreso en hoja tamaño legal. 6)	No tiene	Secretaría de Ambiente. Dirección: San Martín N° 451 – Bs. As. Teléfono: (54) (11) 4348-8543 / 8420  Dirección electrónica de Fauna Silvestre : <a href="http://www.ambiente.gov.ar/default.asp?IdArticulo=6208">http://www.ambiente.gov.ar/default.asp?IdArticulo=6208</a> ; Email: <a href="mailto:materialcientificofauna@ambiente.gob.ar">materialcientificofauna@ambiente.gob.ar</a>

# PROTOCOLO DE NECROPSIA

BALLENA FRANCA AUSTRAL

68

			Formulario Anexo II de Biodiversidad por cuadruplicado, impreso en hoja tamaño legal (ver ANEXO I4). 7) Carta autorizando a la persona que va a realizar todos los trámites. 8) Convenios o cartas acuerdo con las instituciones involucradas nacionales e internacionales, que contemple la distribución de beneficios, los derechos de propiedad intelectual, la transferencia del material a terceros y la disposición final del material (destino final de las muestras). 9) Conformidad por parte de la autoridad jurisdiccional (Fauna Chubut) al transporte y exportación de las muestras.		Grupo de Trabajo Sobre Conservación de la Biodiversidad, Dirección electrónica: <a href="http://www.ambiente.gov.ar/?aplicacion=tramites&amp;IdTramite=32&amp;IdSeccion=24">http://www.ambiente.gov.ar/?aplicacion=tramites&amp;IdTramite=32&amp;IdSeccion=24</a>
<b>c) SENASA</b>	7	160	1) Nota que autoriza a una persona a realizar los trámites; 2) Nota que explica el motivo de la exportación, el detalle de las muestras y a quién se autoriza para el transporte de las mismas; 3) Copia de los permisos otorgados por Fauna, CITES de EXPORTACIÓN, Biodiversidad; 4) Convenio con SENASA, si la institución lo tuviera; 5) Informe del proyecto de investigación y/o resultados. Presentar un original y una copia en mesa de entrada.	Si: ARS 545,60	1) Oficina de Certificaciones del Dr. García Rivas.  Dirección: Carlos Calvo 66. Teléfonos: (54) (11) 4505-5828/5833.  Email: <a href="mailto:certificaciones@senasa.gov.ar">certificaciones@senasa.gov.ar</a>  2) Presentación de la documentación (original y copia) en: Av. Paseo Colón 379.
<b>d) Aduana</b>	2	30	1) Nota solicitando el pedido de exportación y sus motivos, autorizando a una persona para hacer todos los trámites. Tiene que tener firma original y legalizada por escribano. Si la institución está inscripta en AFIP y la firma del responsable está ingresada en el sistema, no es necesaria la legalización con escribano público. 2) Estatuto y Autoridades de la Fundación. 3) Copia de Ticket de viaje. 4) Copia del pasaporte. 5) Copia de todos los permisos otorgados en la Argentina (SENASA, Fauna, Biodiversidad, CITES) y los originales para control aduanero al momento de presentar la documentación. 6) Una vez iniciado el trámite en Aduana y con número de expediente, solicitar en SENASA de Ezeiza otro permiso para presentar al fiscalizador al momento de exportar las muestras.	No tiene	Aeropuerto Internacional de Ezeiza Ministro Pistarini, Ezeiza, CP 1802, Teléfono: (54) (11) 4480-9249

Ti: tiempo en días que se requiere, como mínimo, para obtener los distintos permisos;

Td: tiempo en días de vigencia del permiso una vez aprobado;

Otras cartas: otros documentos generalmente necesarios, como por ejemplo avales. Consultar a la entidad.

**c) DOCUMENTOS NECESARIOS PARA VIAJAR CON LAS MUESTRAS (COMO EQUIPAJE ACOMPAÑADO)**

A) Los permisos otorgados por las distintas instituciones en Argentina (Permiso Fauna Nación, Permiso Biodiversidad, SENASA, CITES EXPO con la firma en el casillero 13 de Aduana Argentina (ver ANEXO 15). B) Inventario de muestras transportadas (ver ANEXO 13). C) Formulario 3-177 USFWS firmado con lapicera azul (ver ANEXO 12). D) Los permisos para importar muestras de USA (permiso NMFS), CITES IMPORTACIÓN y carta autorizando su uso.

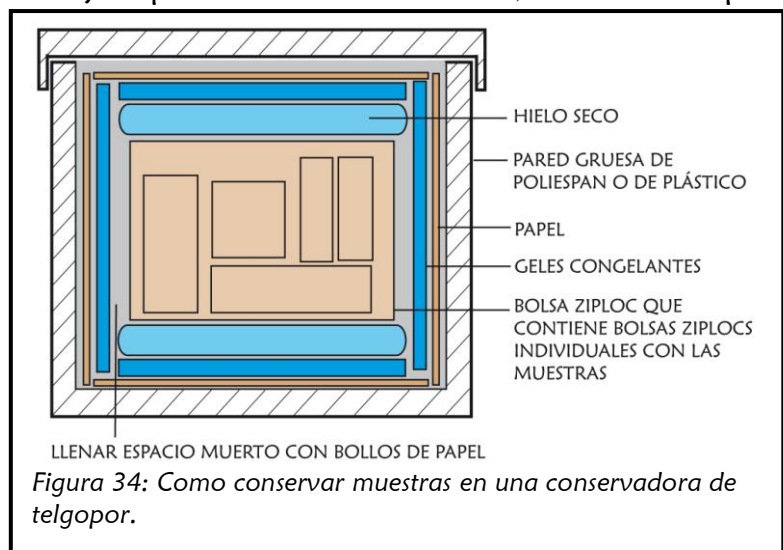
La persona que viaja con las muestras debe de ir con antelación al aeropuerto y antes de despachar su equipaje en la aerolínea correspondiente debe pasar por el mostrador de la aduana y presentar todos los papeles para que firme el permiso CITES de exportación.

**EMBALAJE DE LAS MUESTRAS A TRASLADAR**

Recuerde que todo el trabajo y esfuerzo para la colecta de muestras puede perderse por un envío mal realizado.

**A) Para muestras que requieran cadena de frío**

Para el traslado de muestras congeladas de ballenas es necesario embalarlas con hielo seco (-70 C). No importa cuán breve sea el traslado, se deben tomar todas las precauciones posibles para garantizar la cadena de frío, ya que cualquier encomienda enviada por autobús o avión se puede demorar o extraviar en tránsito. En caso de enviar las muestras por avión, estas se deben despachar como equipaje con un pasajero, o por servicio de cargas (JetPaq para dentro del país o World Courier, FedEx, etc.). Si se lleva como equipaje, previamente se debe confirmar con las líneas aéreas el máximo permitido de hielo seco (algunas compañías aplican estrictos estándares de las normas IATA (International Air Transport Association). Como las muestras parten de Puerto Madryn, lo ideal es conseguir como mínimo 10 kg de hielo seco, en un solo bloque. Puede comprarse en Buenos Aires (Hielo seco Gascri: Artigas 1591, teléfono: (54) (11) 4582-6635, Hielo seco La Morocha: Mercedes 426, teléfono: (54) (11) 4671-7797) o en Rawson (Vulcano Seguridad Industrial, Mariano Moreno 274, teléfono: (54) (0280) 481179). Si proviene de Buenos Aires, es necesario que desde allí se envíe por encomienda el día anterior para que llegue el mismo día de partida de las muestras desde Puerto Madryn. Una vez que las muestras estén en Buenos Aires y previo al viaje internacional, se debe reponer el hielo seco evaporado. El hielo seco debe manipularse con cuidado y con protección adecuada (guantes) ya que es cáustico y debe trabajarse en lugares ventilados. En 24 horas el hielo seco en bloque pierde por evaporación aprox. el 30% del volumen inicial (en



temperaturas cálidas la evaporación se acelera mucho más), por lo que se debe calcular la cantidad del hielo seco en base al volumen de las muestras y el tiempo de tránsito. Se sugiere un mínimo de 1 kg de hielo seco por cada kg de muestras. Recuerde que siempre es mejor pecar por mucho! El hielo seco en escamas o en polvo dura muchísimo menos (menos que la mitad del tiempo del hielo en bloque), por lo que no se recomienda utilizarlos a menos que la distancia a transportar las muestras sea ultra corta y se suplemente con geles congelantes y buen aislamiento.

**Preparación de la conservadora:**

Los viales y frascos deben mantenerse en posición vertical (pueden usarse botellas plásticas de 1.5 lt cortadas, bien apretadas entre sí) y deben colocarse dentro de 2 o 3 bolsas ziploc, por si se descongelan y pierden contenido durante el envío. Las muestras de otros tipos (ej. tejidos), que se encuentran en bolsas ziploc o whirlpack, deben ir también dentro de 2 ó 3 bolsas herméticas tipo ziploc para evitar derrames.

Todas las muestras deben ir con doble rótulo como mínimo y con letra legible (usar marcador indeleble y lápiz). Lo recomendable es usar conservadoras de telgopor de pared ancha o, mejor aún, de plástico rígido (no corre el riesgo de que lo atravesase un material punzante y pierda frío como puede suceder con las de telgopor). El interior de la conservadora se debe recubrir (todos los laterales) con papel y geles congelantes y, una vez introducidas las muestras dentro, se debe rellenar todo espacio muerto con bollos de papel. En la parte superior (sobre las muestras) e inferior, se sitúa el bloque de hielo seco (Figura 34). Sellar la tapa de la conservadora con cinta de embalaje para evitar que se abra durante el transporte pero sin sellar completamente todos los bordes para permitir que salga el gas liberado del hielo seco y evitar que explote si esta herméticamente cerrado (ver Figura 35).

Incluya en el envío los permisos apropiados y la identificación de las muestras remitidas en un folio pegado a la tapa.

**B) Para muestras en formol**

Se consideraría mercancía peligrosa si la concentración del formaldehido superase el 25% (normas IATA). La mayoría de las muestras de ballena conservadas en formol están al 10%, por lo que el riesgo de daño es menor y el control menos riguroso. De todas maneras, se deben tomar todas las precauciones posibles para evitar derrames durante el traslado. Para ello se recomienda sacar las muestras de los envases plásticos (nunca son 100% herméticos) y en su lugar colocarlas rodeadas de algodón o gasa embebido en formol dentro de una bolsa ziploc de cierre hermético. De este modo, las muestras se transportan con muy poco líquido,

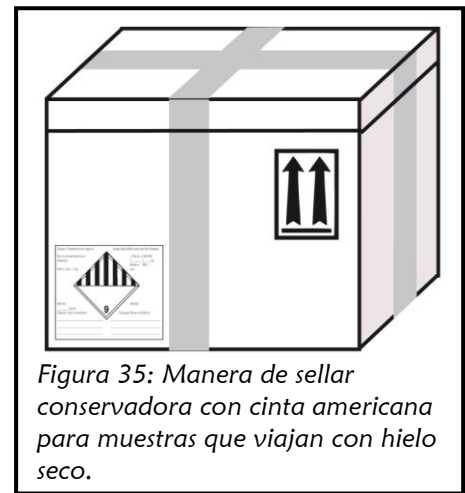


Figura 35: Manera de sellar conservadora con cinta americana para muestras que viajan con hielo seco.



Figura 36: Sellar borde de la tapa de la conservadora con cinta americana para evitar que pierda líquido.

pero se mantienen húmedas hasta llegar a destino. Si el tiempo de traslado o de permanencia en destino supera las 72 hs, se deben volver a colocar las muestras en envases con buena cantidad de formol. Para el traslado, colocar las bolsas ziploc con muestras envueltas en algodón o gasa dentro de otras 2 bolsas herméticas ziploc, y embalar en una caja de plástico o cartón bien resistente y sellar los bordes (ver *Figura 36*).

*NUNCA envíe muestras en formol y congeladas o refrigeradas en la misma caja. SIEMPRE contacte al laboratorio o destinatario y coordine la fecha y medio de envío previo al despacho de la encomienda.*

## BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- Barco, S., Touhey, K. 2007. In prep. Handbook for Recognizing, Evaluating, and Documenting Human Interaction in Stranded Cetaceans and Pinnipeds. Virginia Aquarium Stranding Program, 717 General Booth Blvd., Virginia Beach, VA 23451.
- Bejarano, A.C., Van Dolah, F.M., Gulland, F.M., Rowles, T.K. and Schwacke, L.H., 2008. Production and toxicity of the marine biotoxin domoic acid and its effects on wildlife: a review. *Human and Ecological Risk Assessment* 14, 544–567.
- Best, P.B. and Rüther, H. 1992. Aerial photogrammetry of southern right whales, *Eubalaena australis*. *J. Zool.*, London. 228:595-614.
- Best, P.B., Payne, R., Rowntree, V.J., Palazzo, J.T. and Both, M.C. 1993. Long-range movements of South Atlantic right whales *Eubalaena australis*. *Marine Mammal Science* 9(3): 227–234.
- Bogomolni, A.L., Pugliares, K.R., Patchett, K., Herzig, S.M., Harry, C.T., LaRocque, J.M., Touhey, K.M., Moore M.J. 2009. Mortality Trends of Stranded Marine Mammals on Cape Cod and Southeastern Massachusetts between 2000-2006. *Diseases of Aquatic Organisms*. 88:143-155.
- Bossart, G.D., 2006. Marine mammals as sentinel species for oceans and human health. *Oceanography* 19, 134–137.
- Brodie, P., and Paasche, A., 1985. Thermoregulation and energetic of fin and sei whales based on postmortem, stratified temperature measurements, *Can. J. Zool.* 64: 2267-2269.
- Buono, M. R., Fernandez, M. S., Herrera, Y. 2012. Morphology of the Eye of the Southern Right Whales (*Eubalaena australis*). *The Anatomical Record* 295:355–368.
- Cetaceans Strandings Investigation and Co-ordination in the UK Report to Defra for the period 1st January 2000 - 31st December 2004.
- Cooke, J. 2012. Southwest Atlantic right whales: updated population assessment from photo-id collected at Península Valdés, Argentina. IWC/64/Rep 1 Annex F.



- Cooke, J., Rowntree, V. and Payne, R. (2001) Estimates of demographic parameters for southern right whales (*Eubalaena australis*) observed off Península Valdés, Argentina. *Journal of Cetacean Research and Management* (special issue 2): 125-132.
- Cooke, J., Rowntree, V. and Payne, R. (2003) Analysis of inter-annual variation in reproductive success of South Atlantic right whales (*Eubalaena australis*) from photo-identifications of calving females observed off Península Valdés, Argentina, during 1971-2000. Document SC/55/O23 presented to the Scientific Committee Meeting of the International Whaling Commission. 29 June-10 July, Sorrento, Italy, 16pp.
- Doucette G.J., Mikulski C.M., King K.L., Roth, P.B., Wanga Z., Leandro L.F., DeGrasse S.L., White K.D., De Biase D., Gillett R.M. and Rolland R.M. 2012. Endangered North Atlantic right whales (*Eubalaena glacialis*) experience repeated, concurrent exposure to multiple environmental neurotoxins produced by marine algae. *Environmental Research* 112 (2012) 67–76.
- Doucette, G.J., Cembella, A.D., Martin, J.L., Michaud, J., Cole, T.V.N., Rolland, R.M. 2006. Paralytic shellfish poisoning (PSP) toxins in North Atlantic right whales *Eubalaena glacialis* and their zooplankton prey in the Bay of Fundy, Canada. *Marine Ecology Progress Series* 306, 303–313.
- Dyce, K.M., Sack, W.O., Wensing, C.J.G. 1991. Anatomía veterinaria. Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, Argentina.
- Fairey E.R., Shuart N.G., Busman M., Moeller P.D.R. and Ramsdell J.S. 2001. Biomonitoring Brevetoxin Exposure in Mammals Using Blood Collection Cards. *Environmental Health Perspectives*, volume 109, number 7.
- George, J.C., Bada, J., Zeh, J., Scott, L., Brown, S.E., O'Hara, T., Suydam, R. 1999. Age and growth estimates of bowhead whales (*Balaena mysticetus*) via aspartic acid racemization. *Canadian Journal of Zoology*; Apr 1999; 77, 4; ProQuest Biological Science Collection, pg. 571.
- Geraci, J.R., Lounsbury, V.L. 2005. *Marine Mammals Ashore: A Field Guide for Strandings*, Second Edition. National Aquarium in Baltimore, Baltimore, MD.
- Gil, J., Gimeno, M., Laborda, J., Nuviala, J. 1997. Anatomía del perro. *Protocolos de disección*. Editorial Masson, Barcelona, España.
- Herwig R.P., Staley J. T., Nerini M. K. and Braham H.W. 1984. Baleen Whales: Preliminary Evidence for Forestomach Microbial Fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, p. 421-423 Vol. 47, No. 2
- Hokkanen, J.E.I, *Journal of Theoretical Biology*, 1990. Temperature regulation of marine mammals. 145 (4), 465 – 485.
- IWC (International Whaling Commission) (2001) Report of the workshop on the comprehensive assessment of right whales: a worldwide comparison. *J Cetacean Res Manag* (Spec Issue) 2: 1–60

IWC (International Whaling Commission) (2011) Report of the Southern right whale die-off workshop. 15–18 March 2010, Centro Nacional Patagónico, Puerto Madryn, Argentina. *J Cetacean Res Manag* 12 (Suppl): 367–398

IWC (International Whaling Commission) (2012) Report of the IWC workshop on the assessment of southern right whales 13–16 September 2011, Palacio San Martín, Buenos Aires, Argentina IWC Scientific Committee SC/64/Rep5, IWC, Cambridge, p 1–39 ([IWC.int/sc64docs](http://IWC.int/sc64docs), REPS, SC-64-Rep5.pdf)

IUCN (International Union for Conservation of Nature) (2013) The IUCN Red List of threatened species version 2013.1. IUCN, Cambridge. Available at [www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org) Ketten D.R., Cramer, S., Arruda, J. 2007. A manual for the removal, fixation and preservation of cetacean ears. Woods Hole Oceanographic Institution, Woods Hole, Massachusetts.

King, J.M., Johnson L.R., Dodd, D.C., Newson, M.E., 2005. *The Necropsy Book. A guide for Veterinary Students, Residents, Clinicians, Pathologists, and Biological Researchers.* Charles Louis Davis Publisher, Illinois, USA.

Mclellan, W., S. Rommel, M. Moore and D. Pabst. 2004. Right Whale Necropsy Protocol. Final Report to NOAA Fisheries for contract # 40AANF112525 U.S. Department of Commerce, National Oceanic and Atmospheric Administration, National Marine Fisheries Service, Office of Protected Resources, Silver Spring, Maryland. Pages 51.

Mead, J.G. 2007. Stomach Anatomy and Use in Defining Systemic Relationships of the Cetacean Family Ziphiidae (Beaked Whales). *The Anatomical Record* 290:581–595.

Parks, S.E, Ketten, D. R., O'Malley, J.T. and Arruda, J. 2007. Anatomical Predictions of Hearing in the North Atlantic Right Whale. Woods Hole Oceanographic Institution, Woods Hole, Massachusetts. *The Anatomical Record* 290:734–744.

Plan de Manejo del Área Protegida Sistema Península Valdés, Capítulo 1: Caracterización y antecedentes, pág. 27.

Pugliares, K.R., Bogomolni, A., Touhey, K.M., Herzig, S.M., Harry, C.T. and Moore M. (2007). *Marine Mammal Necropsy: An Introductory Guide for Stranding Responders and Field Biologists.* Woods Hole Oceanographic Institution WHOI-2007-06 131. Woods Hole, MA.

Report of the IWC Workshop on the Assessment of Southern Right Whales. 2011. Report to the International Whaling Commission (SC/64/Rep5).

Report of the Southern Right Whale Die-Off Workshop 15-18 March 2010, Centro Nacional Patagónico, Puerto Madryn, Argentina. Report to the International Whaling Commission (SC/62/Rep1).

Rommel, S.A., Pabst, D.A. and Mclellan, W.A. 2009. Skull anatomy. In: *Encyclopedia of Marine Mammals*, second edition. Perrin, W.F., Wursig, B.J. and Thewissen J.G.M (Editors). Academic Press, San Diego, pp. 1033-1047.

Rosas CL, Gil MN, Uhart MM (2012) Trace metal concentrations in southern right whale (*Eubalaena australis*) at Pe nísula Valdés, Argentina. *Mar Pollut Bull* 64:1255–1260

- Rowntree, V. J. 1983. Cyamids: the louse that moored. *Whalewatcher* 17:14-17.
- Rowntree, V. J. 1996. Feeding, distribution, and reproductive behavior of cyamids (Crustacea: Amphipoda) living on humpback and right whales. *Canadian Journal of Zoology* 74:103-109.
- Rowntree, V. J., McGuinness, P., Marshall, K., Payne, R., Sironi and M., Seger, J. 1998. Increased harassment of right whales (*Eubalaena australis*) by kelp gulls (*Larus dominicanus*) at Península Valdés, Argentina. *Marine Mammal Science*, 14(1):99-115.
- Rowntree, V.J., Marcela M. Uhart, M.M., Sironi, M., Chirife, A., Di Martino, M., La Sala, L., Musmeci, L., Mohamed, N., Andrejuk, A., McAloose, D., Sala, J.E., Carribero, A., Rally, H., Franco, M., Adler, F.R., Brownell, R.L. Jr., Seger, J., Rowles, T. 2013. Unexplained recurring high mortality of southern right whale calves (*Eubalaena australis*) at Península Valdés, Argentina. *Marine Ecology Progress Series*. Vol. 493: 275–289, 2013
- Sironi, M., Rowntree, V.J., Di Martino, M., Chirife, A., Bandieri, L. Beltramino, L., Franco, M. and Uhart, M. 2012. Southern Right Whale Mortalities At Península Valdés, Argentina: Updated Information for 2010-2011. SC/64/BRG12 presented to the International Whaling Commission Scientific Committee, Panama (sin publicar). [Disponible en la oficina de IWC Office]. 5pp.
- Sironi, M. 2004. Behavior and social development of juvenile southern right whales (*Eubalaena australis*) and interspecific interactions at Península Valdés, Argentina. Tesis Doctoral. Universidad de Wisconsin, Madison, Estados Unidos. 6 capítulos, 198pp.
- Sironi, M., Kraus, S.D., Nordheim, E.V., Rowntree, V.J. and C.T. Snowdon. 2005. Age estimation of North Atlantic right whales (*Eubalaena glacialis*) by allometric measurements on photographs. Paper SC/57/BRG7 presented to the International Whaling Commission Scientific Committee, Corea del Sur, June 2005 (sin publicar). 14pp. [Available from the IWC Office]
- Thomas, P.O., Uhart, M., McAloose, D., Sironi, M., Rowntree, V.J., Brownell, R.L Jr., Frances M.D. Gulland, F.M.D., Moore, M.J., Marón, C., Wilson, C. 2013. Workshop on the Southern right whale die-off at Península Valdés, Argentina. SC/65a/BRG15.
- Trends in cetacean strandings around the UK coastline and cetacean and marine turtle post-mortem investigations, 2000 to 2004 inclusive (contract cro 238) edited by Paul D. Jepson
- Uhart, M., Rowntree, V. J., Mohamed, N., Pozzi, L., La Sala, L., Andrejuk, J., et al. 2008. Strandings of southern right whales (*Eubalaena australis*) at Península Valdés, Argentina from 2003-2007. Report to the International Whaling Commission (SC/60/BRG15).
- Uhart, M., Rowntree, V. J., Sironi, M., Chirife, A., Mohamed, N., Pozzi, L., et al. 2009. Continuing southern right whale mortality events at Península Valdés, Argentina. Report to the International Whaling Commission (SC/61/BRG18).
- Valenzuela L., Sironi M., Rowntree V. and Seger J. 2009. Isotopic and genetic evidence for culturally inherited site fidelity to feeding grounds in southern right whales (*Eubalaena australis*). *Molecular Ecology*, 18, 782–791.
- Valenzuela, L.O., Sironi, M., and Rowntree, V.J. 2010. Interannual Variation in the Stable Isotope Differences Between Mothers and Their Calves in Southern Right Whales

(*Eubalaena australis*) Aquatic Mammals 2010, 36(2), 138-147, DOI 10.1578/AM.36.2.2010.138.

Valenzuela, L.O., Sironi, M., Rowntree, V.J. and Seger, J. 2008. Isotopic and genetic evidence for culturally inherited site fidelity to feeding grounds in southern right whales (*Eubalaena australis*) SC/60/BRG13.

Von Schulte, H. 1916. Anatomy of a foetus of *Balaenoptera borealis*. Mem. Am. Mus. Natl. Hist. (N. Ser.) 1:389-502.


## A NEXO 1

### Listado de documentación necesaria para pedir el permiso de renovación en DFyFS:

- Anexo II de Disposición N°48 DFyFS: Formulario de solicitud para realizar trabajos de investigación científica con fauna silvestre completo y firmado ([enlace](#)).
- Proyecto de investigación
- Currículum vitae de Director y co-director del proyecto (máximo 4 páginas)
- Nota solicitando la renovación
- Notal aval de una Institución (ONG, Universidad, CONICET)

### Listado de documentación necesaria para pedir el permiso de renovación en Subsecretaría de Conservación y Áreas Protegidas:

- Proyecto de investigación
- Currículum vitae de Director y Co-director del proyecto (máximo 4 páginas)
- Nota solicitando la renovación
- Notal aval de una Institución (ONG, Universidad, CONICET)
- Anexo VII de Resolución N° 2-OPT/05: Solicitud de renovación de autorización para realizar trabajos de investigación en las áreas naturales protegidas provinciales completo y firmado:

República Argentina PROVINCIA DEL CHUBUT SECRETARÍA DE TURISMO ORGANISMO PROVINCIAL DE TURISMO			
<b>ANEXO VII</b>			
SOLICITUD DE RENOVACIÓN DE AUTORIZACIÓN PARA REALIZAR TRABAJOS DE INVESTIGACIÓN EN LAS ÁREAS NATURALES PROTEGIDAS PROVINCIALES			
Nombre y Apellido del responsable:.....			
Fecha: .....Profesión:.....			
Institución:.....			
Dirección Postal:			
Calle:.....N°:..... Código Postal:.....			
Ciudad:.....Provincia:..... País:.....			
T.E y fax:.....E-mail: .....			
Título del proyecto:.....			
Área Natural Protegida: .....			
Período de trabajo: .....			
Adjunto (marque con una cruz):			
<input type="checkbox"/>	Listado de investigadores que forman el equipo de trabajo y referencias de aquellos que no las hubiesen presentado al iniciarse el proyecto		
<input type="checkbox"/>	Cronograma de trabajo:		
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Actividades		
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Metodología		
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Época del año		
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Lugar		
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Responsables		
Me comprometo a presentar a la Dirección General de Conservación de Áreas Protegidas, en un plazo de 12 meses un informe, o copia de los trabajos, con el resultado (total o parcial) de las tareas que se me autoriza a realizar en las áreas naturales protegidas bajo su competencia y a hacer respetar, por los miembros del equipo, las pautas establecidas en el Anexo I. de la Resolución N° 052/05-OPT.			
Firma .....			
Reservado para completar por la Dirección General de Conservación y Control de Calidad			
Permiso otorgado	Sí <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	
Fecha:.....			
Número de Registro:.....			
N° de la Disposición de autorización: .....			
Avda. 9 de Julio 280 – CP 9103 – Rawson – Chubut – Argentina - Te./Fax: 54 2965 481113 – 485272/71. E mail: <a href="mailto:info@chubutur.gov.ar">info@chubutur.gov.ar</a>			

## ANEXO 2

### Listado de kit de primeros auxilios

La mayoría de los elementos son suministros básicos y se pueden conseguir en la farmacia o en el supermercado:



- Manual de primeros auxilios
- Vendajes adhesivos (como *Band-Aid* o marcas similares), clasificados por tamaños
- Férulas de aluminio para los dedos
- Vendaje elástico (ACE) para cubrir lesiones en la muñeca, el tobillo, la rodilla y el codo
- Protectores, almohadillas y vendajes para los ojos
- Guantes de látex
- Gasas estériles
- Cinta adhesiva hipoalergénica
- Jeringas y agujas
- Aplicadores o hisopos de algodón estériles
- Termómetro
- Pinzas para extraer garrapatas y astillas pequeñas
- Tijeras
- Pinza hemostática
- Solución o toallitas antisépticas, como peróxido de hidrógeno, povidona yodada al 10% y clorhexidina
- Desinfectante de manos (alcohol en gel)
- Ungüento antibiótico
- Enjuague estéril ocular, como solución salina para lentes de contacto
- Loción de calamina para picaduras
- Crema, ungüento o loción de hidrocortisona para la picazón
- Antiinflamatorios no esteroides (ibuprofeno y/o paracetamol), antiácidos...

*Asegúrese de revisar el botiquín de primeros auxilios con regularidad y reponga cualquier elemento que se esté acabando o haya vencido.*

Teléfonos de emergencia:

100-Bomberos  
101-Policía  
103-Defensa civil  
106-Prefectura  
107-Hospital

---

-Hospital Dr. Isola. Dirección: R. Gómez 383, Puerto Madryn. Teléfonos:  
(54) (280) 4451240 / 4451999 / 4453030 / 4472881

-Hospital rural de Puerto Pirámides. Dirección: Julio A. Roca s/n, Puerto  
Pirámides. Teléfono: (54) (280) 4495081

## ANEXO 3

### Listado completo de Equipo de necropsia

#### a) Materiales dentro de mochila de toma de muestras

##### PROTECCION PERSONAL

- Gorros
- Anteojos protectores
- Guantes de tacto rectal
- Guantes de látex grueso tipo "cocina" chicos, medianos y grandes
- Guantes de látex de exanimación chicos, medianos y grandes
- Mascarillas
- Muñequeras y fajas para seguridad personal
- Cintas de embalar, silver tape o cinta americana para sellar el espacio entre el guante de tacto rectal y el guante de cocina y el guante de tacto rectal a las mangas. (ver Figura 4), cinta de peligro
- Kit de primeros auxilios (ver ANEXO 1)
- Papel, toallitas húmedas y algodón
- Alcohol en gel

##### CONSERVANTES

- Envases herméticos con formol al 10% y 40%
- Envase hermético con alcohol 96%
- Envase hermético con metanol
- Viales Eppendorf con RNAlater

##### COLECTA DE MUESTRAS

- Frascos de 40 y 250 ml
- Frascos estériles de 40 ml
- Tubos de ensayo secos de 10 ml tipo Vacutainer™
- Tubos de ensayo para suero de 10 ml tipo Vacutainer™ (con y sin gel separador)

- Crioviales de 5 ml
- Viales con RNAlater
- Bolsas zip-loc chicas, medianas y grandes
- Whirlpacks (bolsas estériles para nitrógeno líquido)
- Bolsas medianas y grandes (de consorcio)
- Hisopos con medio Stuart
- Hisopos estériles secos (sin medio)
- Agujas 21 G, 18 G, agujas espinales 18G
- Jeringas de 5 y 10 ml
- Hojas de bisturí
- Tubos con EDTA
- Heparina
- Portaobjetos
- Tiras reactivas "Multistick" para orina, tiras para detectar cuerpos cetónicos
- Tarjetas Whatman FTA o Protein Saver 903 y papel filtro para sangre
- Gradilla para tubos
- Caja para portaobjetos

##### MATERIALES PARA IDENTIFICACIÓN

- Alambre y alicate
- Precintos grandes y caravanas
- Rotulador indeleble y lápiz

##### OTROS

- Manta impermeable
- Rollo de hilo de polipropileno retorcido
- Hilo de nylon 50 mm
- Descartador de material punzo cortante (agujas y hojas de bisturí)

**b) Materiales dentro de mochila “sucia”**

- 2 ó 4 Waders (2 con botas incluidas)
- 2 pares de botas
- Bolsas de consorcio y de residuos
- Detergente biodegradable
- Cepillos
- Maza de madera
- Tabla para cortar
- Cinta métrica de 50 metros
- Pala
- Hacha
- Costótomo

**c) Mochila chica**

- Planillas de necropsia en carpeta impermeable. Llevar para 5 ó más individuos.
- Lápices, lapiceras, marcador indeleble, marcador para crioviales y whirlpacks, goma, sacapuntas, tijeras
- Regla de 30 cm
- Cámara de Fotos
- GPS
- Pilas o batería de repuesto para cámara o GPS
- Binoculares y monocular
- Cuaderno o libreta

**d) Tubo de PVC (2 juegos)**

- Cuchillos de acero inoxidable de diferentes tamaños

• Gubias

- Ganchos de pesca de diferentes tamaños
- Tijeras
- Mango de bisturí
- Pinzas con diente de ratón
- Pinzas de mano izquierda
- Chairas y otros afiladores
- Regla metálica de 50 cm

**e) Conservadoras de diferentes tamaños**

**f) En camioneta**

- 2 baldes
- Varillas de hierro para delimitar área junto a cinta de peligro
- Malacate
- Sogas de diferente calibre
- Mantas
- Caja de herramientas
- SERRUCHO
- Pala
- Ropa de repuesto
- Traje completo de neopreno
- Repuestos de materiales de “toma de muestras”
- 2 bidones de agua (uno para beber y otro para lavarse las manos)



# ANEXO 4

## Planilla de información general utilizada por el PMSBFA en el 2013

ID: mesdíaañoPV-Ea##

ID:.....

(Día: fecha de reportado; ##: nro. de varamiento de la temporada)

### PLANILLA I: INFORMACIÓN GENERAL

- 1) Fecha de necropsia: \_\_/\_\_/\_\_  
M D A
- 2) Hora comienzo de trabajo: .....
- 3) Hora finalización de trabajo: .....
- 4) Estado  
# Vivo ( )  
# Muerto ( )
- 5) Sexo M ( )  
H ( )  
DESC ( )
- 6) Clase de edad  
a. Adulto ( )  
b. Juvenil ( )  
c. Cría de la estación ( ) (hasta 9.45 mts)  
d. DESC ( )
- 7) Condición al varamiento  
a. 1 a 5 ( )
- 8) Condición en la necropsia  
a. 2 a 5 ( )
- 9) Hallazgo  
a. Reportado ( )  
Por quién?.....  
Fecha: \_\_/\_\_/\_\_  
b. Relevamiento ( ) Fecha \_\_/\_\_/\_\_
- 10) Fecha de varamiento:  
a. Conocida ( ) Fecha: \_\_/\_\_/\_\_  
b. Desconocida ( )  
c. Estimada ( ) Fecha: \_\_/\_\_/\_\_
- 11) Tiempo estimado desde la muerte (días)  
a. 0 – 2 ( )  
b. 3 – 5 ( )  
c. 6 – 10 ( )  
d. > 10 ( )
- 12) Posición del cuerpo  
a. LD ( )  
b. LI ( )  
c. VD ( )  
d. DV ( )  
e. Otra ( )  
Describe:.....
- 13) Nombre del lugar: .....  
- Lat. S.....  
- Long. O. ....
- 14) Caravana? No ( )  
Si ( )  
a. Número:.....  
b. Lugar aplicación:.....
- 15) Alguna otra marca identificatoria:.....
- 17) Historia: .....
- 18) Persona/s a cargo y roles  
a. Planillero/envasador/rotulador: .....  
b. Fotógrafo: .....  
c. Necropsia: .....

Condición al varamiento y necropsia:

- 1-Animal vivo
- 2-CARCASA FRESCA: apariencia normal; generalmente pocas lesiones por carroñeros; olor fresco; piel levemente seca o arrugada, mucosas y ojos levemente secos; ojos claros; ausencia de hinchazón por gases; lengua y pene sin protuir
- 3-MODERADA DESCOMPOSICION: Carcasa intacta; hinchazón por gases evidente (lengua y pene protuidos); piel agrietada y desprendimiento en algunas zonas, posible lesiones por carroñeros; membrana mucosas secas; ojos hundidos o ausentes. La mayor parte de órganos internos con estructura conservada
- 4-DESCOMPOSICION AVANZADA: La carcasa puede estar intacta pero colapsada; piel agrietada, severos daños por carroñeros; fuerte olor, grasa y músculo que puede desgarrarse fácilmente; huesos se desprenden fácilmente; órganos internos licuefactos
- 5- MOMIFICADA O RESTO DE ESQUELETO: Carcasa desecada; restos de piel y huesos

ANEXO 5

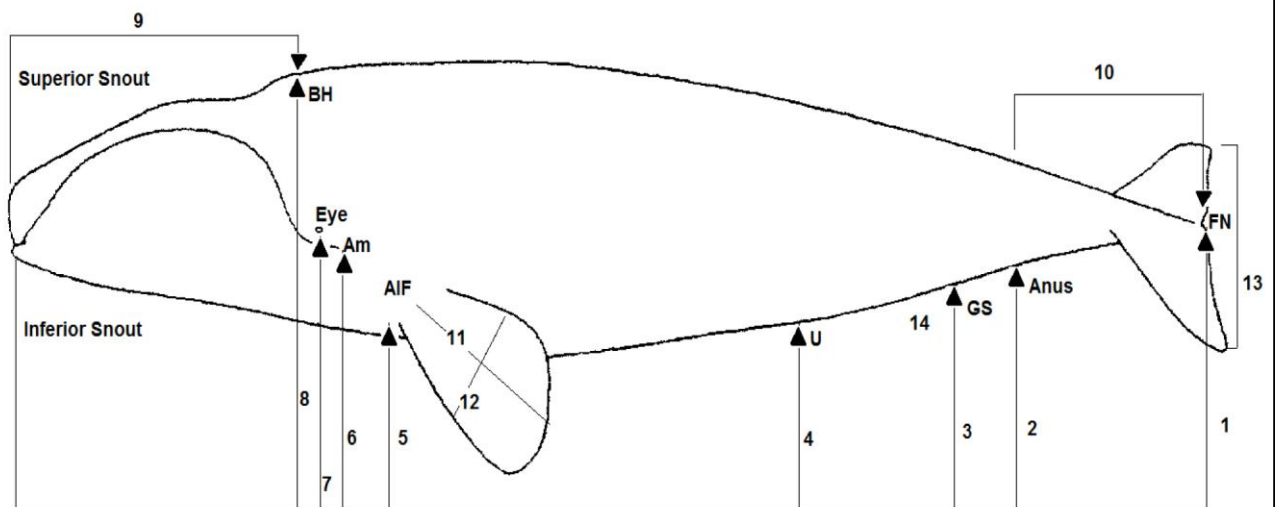
Planilla de morfometría utilizada por el PMSBFA en el 2013

ID: mesdíaañoPV-Ea##

ID:.....

(Día: fecha de reportado; ##: nro. de varamiento de la temporada)

PLANILLA II: MORFOMETRÍA



	Desde	Hasta	Medida	Unidad
1	Trompa (Inferior Snout)	Bifurcación aleta caudal (FN)		m
2	Trompa (Inferior Snout)	Centro de ano (Anus)		m
3	Trompa (Inferior Snout)	Centro de abertura genital (GS)		m
4	Trompa (Inferior Snout)	Centro de ombligo (U)		m
5	Trompa (Inferior Snout)	Inserción ant. de aleta (AIF)		m
6	Trompa (Inferior Snout)	Ángulo de la boca (Am)		m
7	Trompa (Inferior Snout)	Centro del ojo (Eye)		m
8	Trompa (Inferior Snout)	Centro de espiráculo (BH)		m
9	Trompa superior (Superior Snout)	Centro de espiráculo (BH)		m
10	Ano (Anus)	Bifurcación aleta caudal (FN)		m
11	Máximo largo de aleta pectoral			m
12	Máximo ancho de aleta pectoral			m
13	Máximo ancho aleta caudal			m
14	Largo máximo pene			m
15	Circunferencia de pene			m
16	Número de barbas en lado IZQUIERDO o DERECHO			m
17	Longitud barba más larga			m
18	Distancia entre ojos (rectilínea)			m

**ANEXO 6**

Planilla de medición del espesor de piel y grasa utilizada por el PMSBFA en el 2013

ID: mesdíaañoPV-Ea##

ID:.....

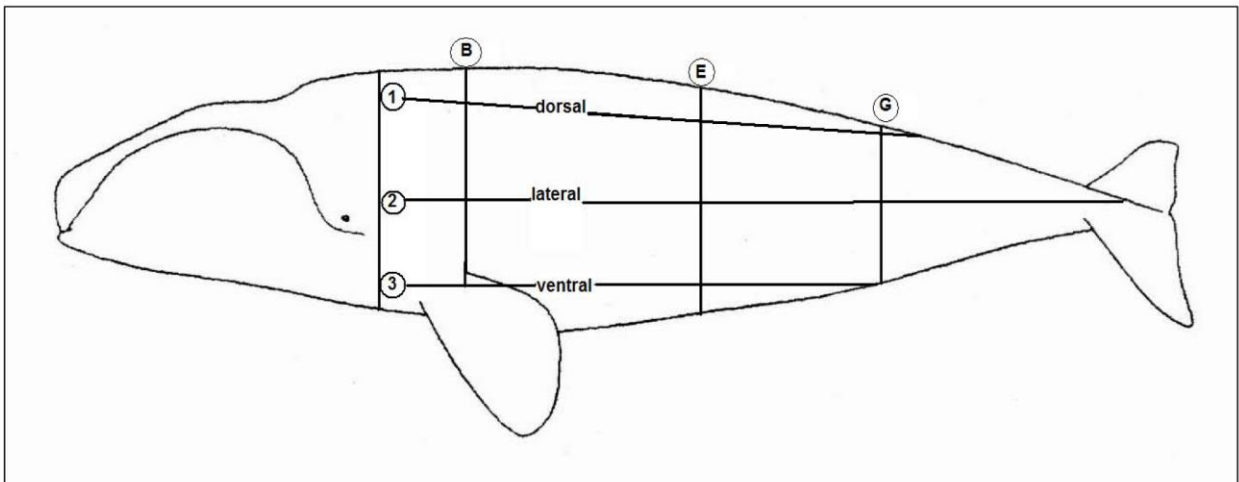
(Día: fecha de reportado; ##: nro. de varamiento de la temporada)

**PLANILLA III**

**ESPEORES DE CAPA PIEL-GRASA (Espesor de grasa: independientemente del Código de necropsia, prioridad espesor de grasa de zona umbilical; Espesor de piel: piel normal sin lesiones por carroñeros)**

**Fecha:**

**Condición de Necropsia:**



	B		E		G	
	Grasa	Piel	Grasa	Piel	Grasa	Piel
<b>1</b> <b>DORSAL</b>						
<b>2</b> <b>LATERAL</b>						
<b>3</b> <b>VENTRAL</b>						

Tomar esta medida 10 cm caudal al ano

\* Medir **primero** capa de grasa, luego capa de piel (ambas en cm.)

El 2 corresponde al B4 de planillas del 2003-2008  
 El 3 corresponde al B7 planillas del 2003-2008

## ANEXO 7

### Planilla de examen externo utilizada por el PMSBFA en el 2013

ID: mesdíaañoPV-Ea### (Día: fecha de reportado; ##: nro. de varamiento de la temporada)	ID:.....
<b>PLANILLA IV EXAMEN EXTERNO</b>	
<b>1. EVIDENCIA DE INTERACCIÓN HUMANA</b>	
Presente* ( ) Dudosa* ( ) Ausente ( ) NA ( ) debido a la posición NA ( ) sin piel	
* Complete abajo la planilla de <i>Evaluación de Interacción Humana</i> .	
<b>2. CONDICIÓN CORPORAL</b>	
<ul style="list-style-type: none"><li>( ) <b>Muy Delgado</b> (músculos epiaxiales cóncavos, cuello, costillas, escápula, huesos de la cadera y/o procesos vertebrales obvios).</li><li>( ) <b>No muy Delgado</b> (robusto o levemente delgado o cualquier condición que no es la descrita en el ítem anterior).</li></ul>	
<b>3. PIEL</b>	
<hr/> <hr/> <ul style="list-style-type: none"><li>Muy elástica ( )</li><li>Elástica ( )</li><li>Cuarteada ( )</li><li>Sin piel Parcial ( ) % de piel presente:.....</li><li>Sin piel Total ( )</li></ul>	
<b>4. INTEGUMENTO</b>	
<ul style="list-style-type: none"><li>( ) <b>Normal</b></li><li>( ) <b>Anormal</b><sup>#</sup> (condición <b>no</b> asociada con descomposición como: alopecia, lesiones de piel, abrasiones, etc.) # <i>ver punto 9</i></li><li>( ) <b>Descompuesto/picotazos</b> (cambios post mortem, como ser desprendimiento de piel, quemaduras del sol o por daño debido a picotazos)</li><li>( ) <b>NA</b></li></ul>	
Describa aspecto general de las lesiones	
Fotos ( ) <b>Grafique ubicación en el animal</b>	
<hr/> <hr/>	
<b>5. PREDACIÓN POR CARROÑEROS</b>	Presente / Ausente
<b>6. CIÁMIDOS</b>	Vivos / Muertos / Ausente
Describir color: .....Ubicación:.....Fotos ( )	
NA: No aplicable / NE: No examinado / SLA: Sin Lesiones Aparentes	

ID: mesdíaañoPV-Ea##

ID:.....

(Día: fecha de reportado; ##: nro. de varamiento de la temporada)

**7. LESIONES CAUSADAS POR GAVIOTAS**

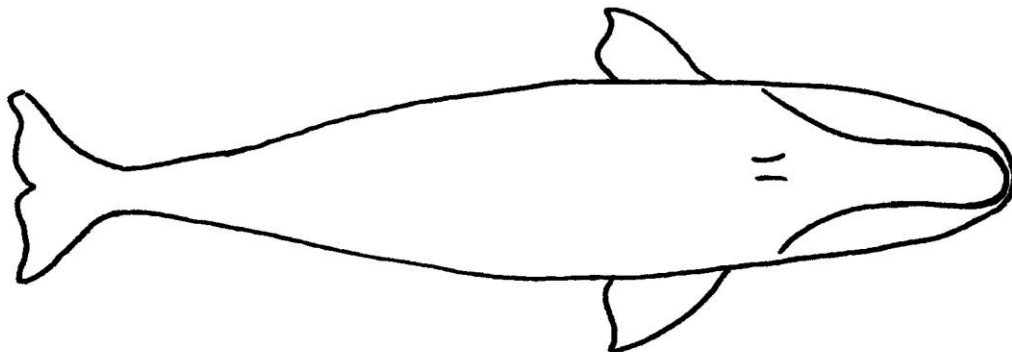
- a. Presente ( )      Numero ( )
- b. Ausente ( )
- c. Sin piel: • Lesiones visibles( )    • NA ( )
- d. NA por posición ( )

N°	Pre mortem	Post mortem	Piel y Blubber	Solo Piel	Diametro mayor	Diametro menor	Profundidad	Observaciones	N°	Pre mortem	Post mortem	Piel y Blubber	Solo Piel	Diametro mayor	Diametro menor	Profundidad	Observaciones
1									13								
2									14								
3									15								
4									16								
5									17								
6									18								
7									19								
8									20								
9									21								
10									22								
11									23								
12									24								

\*Medidas en cm.

Observaciones: completar con color, aspecto (cicatrizado, sano, sangrante, infectado), forma (rectangular, circular, irregular), bordes (liso, irregular)

Fotos ( ) **Grafique ubicación de las lesiones en el animal.**



Describa aspecto general de las lesiones: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

ID: mesdíaañoPV-Ea## ID:.....  
 (Día: fecha de reportado; ##: nro. de varamiento de la temporada)

**8. CAYOS (cirripedios)** Vivos / Muertos / No visibles por la posición / Ausente / NA  
 Fotos ( )

SACAR FOTOS DE AMBOS LADOS DE CABEZA Y DE ARRIBA PARA VER PATRON DE CALLOSIDAES

**9. #TIPOS DE LESIONES ANORMALES**

- Impresiones ( )
- Abrasión ( )
- Laceraciones ( )
- Heridas penetrantes ( )
- Tejido de cicatrización ( )
- Otros ( ) Describir.....
- NA ( )
- No hallado ( )

Fotos ( ) **Grafique y describa ubicación en el animal (esquemas inferiores)**

**10. ESPIRÁCULO** (mucosa, aspecto)

**11. BOCA** (lengua, barbas, mucosa oral)

**12. OJOS** (color, aspecto)

**Derecho:** \_\_\_\_\_

**Izquierdo:** \_\_\_\_\_

**13. HENDIDURA GENITAL Y ANO** (aspecto, color de la mucosa)

**14. GLÁNDULAS MAMARIAS** (color, aspecto, presencia de leche)

**15. OMBLIGO** Rosa ( ) Abierto ( ) Cicatrizado ( )

ID: mesdíaañoPV-Ea##

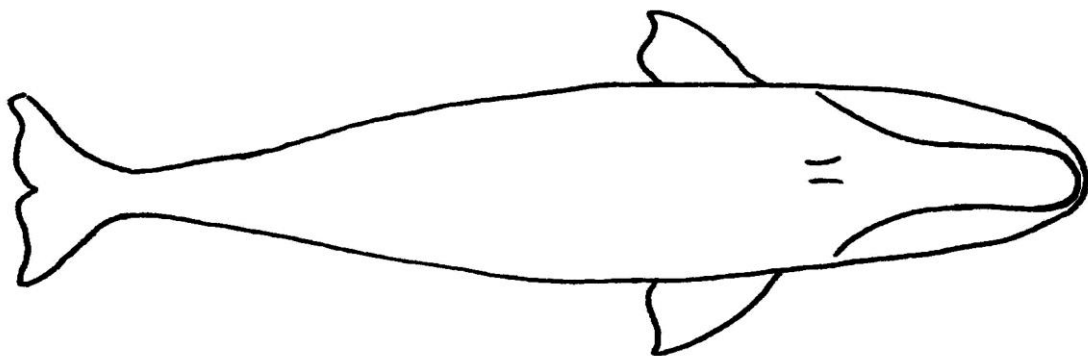
ID:.....

(Día: fecha de reportado; ##: nro. de varamiento de la temporada)

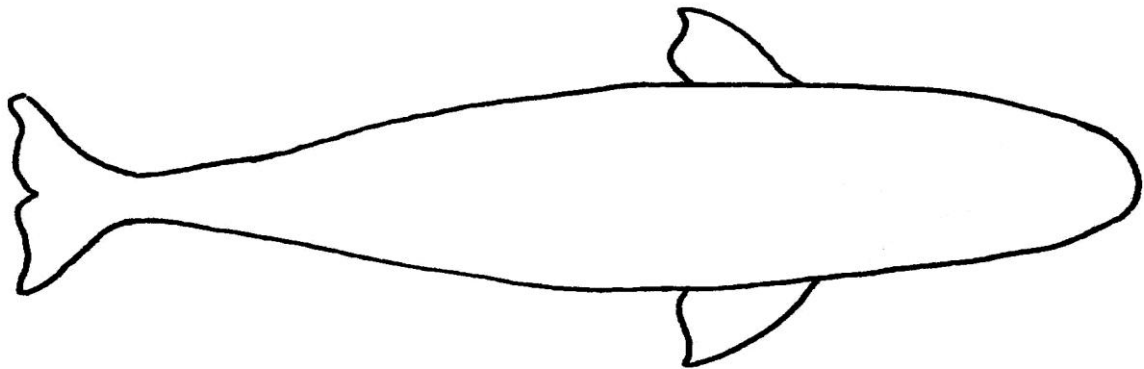
**OBSERVACIONES EXTERNAS**

En los siguientes dibujos, marque cualquier observación que considere de importancia.

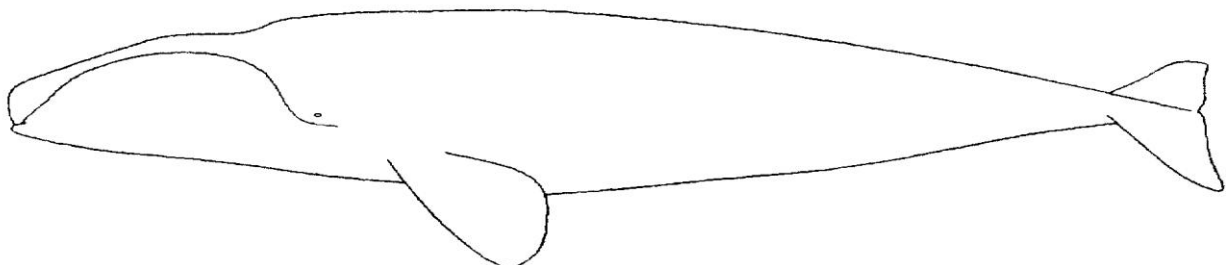
**Dorsal:**



**Ventral:** Dibuje la abertura genital de acuerdo al sexo.



**Lado izquierdo:**



ID: mesdíaañoPV-Ea##

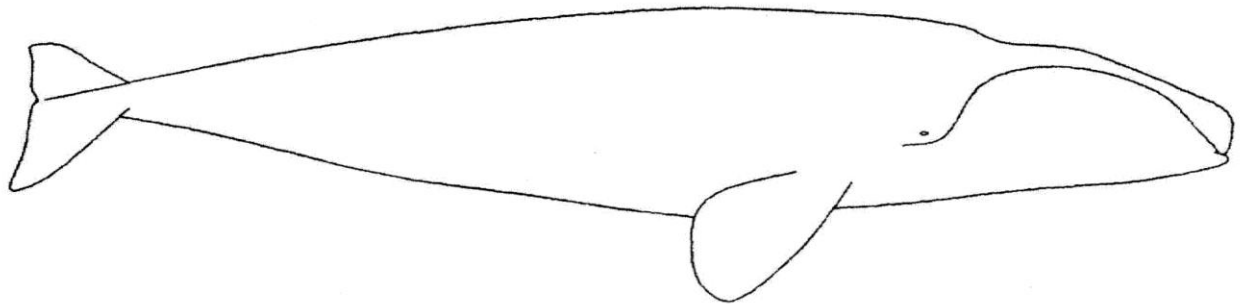
ID:.....

(Día: fecha de reportado; ##: nro. de varamiento de la temporada)

**Lado derecho:**

\_\_\_\_\_

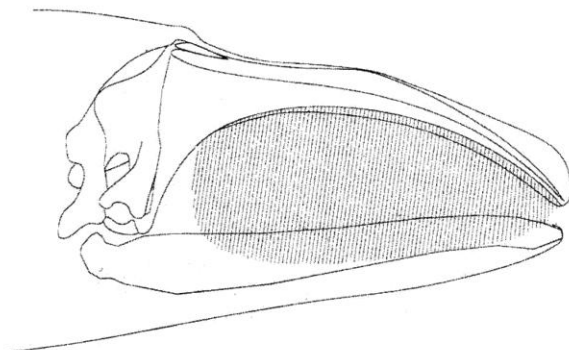
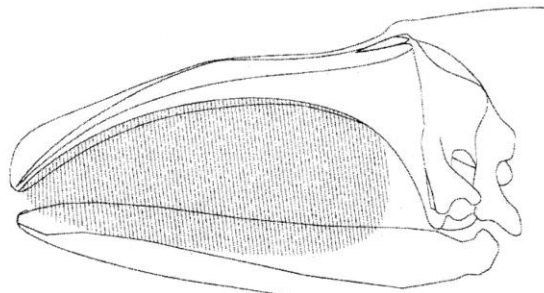
\_\_\_\_\_



**Cabeza:**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_





## ANEXO 8

### Planilla de evaluación de interacción humana utilizada por el PMSBFA en el 2013

ID: mesdíaañoPV-Ea##

ID:.....

(Día: fecha de reportado; ##: nro. de varamiento de la temporada)

#### EVALUACIÓN DE INTERACCIÓN HUMANA-EXAMEN EXTERNO

✓ **Marcas de red o líneas de pesca** Si ( ) No ( ) fotos ( )

-Descripción: \_\_\_\_\_

✓ **Artefactos de pesca presentes** Si ( ) No ( ) fotos ( )

-Descripción: \_\_\_\_\_

✓ **Heridas penetrantes** Si ( ) No ( ) fotos ( )

Descripción: \_\_\_\_\_

✓ **Evidencia de colisión por embarcación** Si ( ) No ( ) fotos ( )

-Descripción: \_\_\_\_\_

✓ **Mutilaciones** Si ( ) No ( ) fotos ( )

-Descripción: \_\_\_\_\_

✓ **Hemorragias externas** Si ( ) No ( ) fotos ( )

-Descripción: \_\_\_\_\_

#### EVALUACIÓN DE INTERACCIÓN HUMANA-EXAMEN INTERNO

✓ **Hemorragia/hematoma** Si ( ) No hallada ( ) NE ( ) fotos ( )

- Descripción: \_\_\_\_\_

✓ **Fracturas** Si ( ) No hallada ( ) NE ( ) fotos ( )

-Descripción: \_\_\_\_\_

✓ **Otra:**

-Descripción: \_\_\_\_\_

## ANEXO 9

### Planilla de examen interno utilizada por el PMSBFA en el 2013

ID: mesdíaañoPV-Ea##

ID:.....

(Día: fecha de reportado; ##: número de varamiento de la temporada)

#### PLANILLA V EXAMEN INTERNO

(Describir todas las observaciones visibles de los órganos examinados incluso en los tejidos/órganos descompuestos, sacar fotos y medir órganos)

**1. GRASA** SLA CLA NE NA

---

---

---

**2. TEJIDO SUBCUTÁNEO:** SLA CLA NE NA  
(Notar presencia o ausencia de grasa subcutánea)

---

---

---

**3. SISTEMA MÚSCULOESQUELÉTICO** SLA CLA NE NA

---

---

---

**4. SISTEMA DIGESTIVO** SLA CLA NE NA  
(Notar presencia o ausencia de grasa mesentérica)

---

---

Longitud de intestino (mts) : .....

**5. SISTEMA URINARIO** SLA CLA NE NA  
(Notar presencia o ausencia de grasa perirenal)

---

---

---

**6. SISTEMA REPRODUCTIVO HEMBRA** SLA CLA NE NA

---

---

---

**7. SISTEMA REPRODUCTIVO MACHO** SLA CLA NE NA

---

---

---

HP: histopatología SLA: sin lesiones aparentes CLA: con lesiones aparentes NE: no examinado  
NA: no aplicable

Continuar al dorso si es necesario

ID: mesdíaañoPV-Ea##

ID:.....

(Día: fecha de reportado; ##: número de varamiento de la temporada)

**8. SISTEMA RESPIRATORIO**

SLA      CLA      NE      NA

---

---

---

**9. SISTEMA CARDIOVASCULAR**

SLA      CLA      NE      NA

(Notar presencia o ausencia de grasa pericárdica)

---

---

---

**10. SISTEMA ENDÓCRINO**

SLA      CLA      NE      NA

---

---

---

**11. SNC & ÓRGANOS DE LOS SENTIDOS**

SLA      CLA      NE      NA

---

---

---

**12. SISTEMA HEMOLINFÁTICO**

SLA      CLA      NE      NA

---

---

---

HP: histopatología    SLA: sin lesiones aparentes    CLA: con lesiones aparentes    NE: no examinado

NA: no aplicable

Continuar al dorso si es necesario

ANEXO 10

Planilla de muestras para histopatología utilizada por el PMSBFA en el 2013

ID:.....

PLANILLA VI - MUESTRAS PARA HISTOPATOLOGÍA

1. Piel, Grasa, Subcutáneo y Musculo-esquelético

Piel	HP	SLA	CLA	NE	NA
Tejido subcutáneo	HP	SLA	CLA	NE	NA
Músculo axial	HP	SLA	CLA	NE	NA
Otros músculos	HP	SLA	CLA	NE	NA
Vértebra caudales	HP	SLA	CLA	NE	NA
Vértebra lumbares	HP	SLA	CLA	NE	NA
Vértebra torácicas	HP	SLA	CLA	NE	NA
Costillas	HP	SLA	CLA	NE	NA
Huesos pélvicos	HP	SLA	CLA	NE	NA
Hueso pectorales	HP	SLA	CLA	NE	NA
Hueso caudales	HP	SLA	CLA	NE	NA
Cráneo	HP	SLA	CLA	NE	NA
Elementos esq. Asociados	HP	SLA	CLA	NE	NA

(Muestras de HP de 1x1 cm en formol al 10 %, recordar colocar en frasco de 250 ml y poner clip identificador a cada tejido que se tome, recordar contar cuantas muestras hay en el frasco al finalizar, n=.....)

2. Sistema Digestivo

Encía	HP	SLA	CLA	NE	NA
Barbas	HP	SLA	CLA	NE	NA
Lengua	HP	SLA	CLA	NE	NA
Esófago	HP	SLA	CLA	NE	NA
Pre-Estómago	HP	SLA	CLA	NE	NA
Cámara fúndica	HP	SLA	CLA	NE	NA
Cámara pilórica (est. ppal.)	HP	SLA	CLA	NE	NA
Duodeno	HP	SLA	CLA	NE	NA
Intestino delgado	HP	SLA	CLA	NE	NA
Intestino grueso	HP	SLA	CLA	NE	NA
Hígado	HP	SLA	CLA	NE	NA
Páncreas	HP	SLA	CLA	NE	NA
Ganglios mesentéricos	HP	SLA	CLA	NE	NA

3. Sistema Urinario

Riñón D.	HP	SLA	CLA	NE	NA
Riñón I.	HP	SLA	CLA	NE	NA
Ureteres	HP	SLA	CLA	NE	NA
Uretra	HP	SLA	CLA	NE	NA
Vejiga	HP	SLA	CLA	NE	NA

4. Sistema Reproductivo Macho

Testículo D.	HP	SLA	CLA	NE	NA
Testículo I.	HP	SLA	CLA	NE	NA
Epidídimo	HP	SLA	CLA	NE	NA
Vesículas seminales	HP	SLA	CLA	NE	NA
Próstata	HP	SLA	CLA	NE	NA
Conductos deferentes	HP	SLA	CLA	NE	NA

5. Sistema Reproductivo Hembra

Ovarios	HP	SLA	CLA	NE	NA
Cuernos uterinos	HP	SLA	CLA	NE	NA
Útero	HP	SLA	CLA	NE	NA
Cérvix	HP	SLA	CLA	NE	NA
Vagina	HP	SLA	CLA	NE	NA
Glándulas mamarias	HP	SLA	CLA	NE	NA

6. Sistema Respiratorio

Diafragma	HP	SLA	CLA	NE	NA
Pulmón I.	HP	SLA	CLA	NE	NA
Pulmón D.	HP	SLA	CLA	NE	NA
Tráquea	HP	SLA	CLA	NE	NA
Bronquios	HP	SLA	CLA	NE	NA
Pleura	HP	SLA	CLA	NE	NA
Ganglios linfáticos	HP	SLA	CLA	NE	NA

7. Sistema Endócrino

Timo	HP	SLA	CLA	NE	NA
Tiroides	HP	SLA	CLA	NE	NA
Paratiroides	HP	SLA	CLA	NE	NA
Adrenal I.	HP	SLA	CLA	NE	NA
Adrenal D.	HP	SLA	CLA	NE	NA

**Referencia** – Cuando un órgano o tejido aparenta estar normal, marcar como “Sin Lesiones Aparentes” (SLA); de presentar anomalías, marcar como “Con Lesiones Aparentes” (CLA); si no fue examinado, marcar como “No Examinado” (NE); si el órgano no está presente como consecuencia de autólisis o simplemente está ausente (ej. aleta amputada por hélice), marcar como “No Aplicable” (NA). Si se tomaron muestras para Histopatología (HP), marcar esta opción. Hacer observaciones adicionales en el espacio de abajo, haciendo referencia en cada comentario al sistema y órgano o parte con la letra y número correspondientes.

ID:.....

**8. Sistema Cardiovascular**

Pericardio	HP	SLA	CLA	NE	NA
<b>Ventrículo D.</b>	HP	SLA	CLA	NE	NA
<b>Ventrículo I.</b>	HP	SLA	CLA	NE	NA
<b>Aurícula D.</b>	HP	SLA	CLA	NE	NA
<b>Aurícula I.</b>	HP	SLA	CLA	NE	NA
<b>Válvulas</b>	HP	SLA	CLA	NE	NA
<b>Aorta</b>	HP	SLA	CLA	NE	NA
<b>Vena cava</b>	HP	SLA	CLA	NE	NA
<b>Arterias pulmonares</b>	HP	SLA	CLA	NE	NA
<b>Venas pulmonares</b>	HP	SLA	CLA	NE	NA
Arterias coronarias	HP	SLA	CLA	NE	NA
Circulación caudal	HP	SLA	CLA	NE	NA
Circulación craneal	HP	SLA	CLA	NE	NA

**9. SNC y Órganos de los sentidos**

Oído I.	HP	SLA	CLA	NE	NA
Oído D.	HP	SLA	CLA	NE	NA
Ojo I.	HP	SLA	CLA	NE	NA
Ojo D.	HP	SLA	CLA	NE	NA
Glándula pituitaria	HP	SLA	CLA	NE	NA
Médula espinal	HP	SLA	CLA	NE	NA
<b>Cerebelo</b>	HP	SLA	CLA	NE	NA
<b>Meninges</b>	HP	SLA	CLA	NE	NA
<b>Cerebro</b>	HP	SLA	CLA	NE	NA

Examinado por:

**10. Sistema Hemolinfático**

<b>Bazo</b>	HP	SLA	CLA	NE	NA
Médula ósea	HP	SLA	CLA	NE	NA
Otros ganglios	HP	SLA	CLA	NE	NA

**11. Otros**

<b>Cordón umbilical</b>	HP	SLA	CLA	NE	NA
	HP	SLA	CLA	NE	NA
	HP	SLA	CLA	NE	NA

**(Muestras de HP de 1x1 cm en formol al 10 %, recordar colocar en frasco de 250 ml y poner clip identificador a cada tejido que se tome, recordar contar cuantas muestras hay en el frasco al finalizar, n=.....)**

**Referencia** – Cuando un órgano o tejido aparenta estar normal, marcar como “Sin Lesiones Aparentes” (SLA); de presentar anomalías, marcar como “Con Lesiones Aparentes” (CLA); si no fue examinado, marcar como “No Examinado” (NE); si el órgano no está presente como consecuencia de autólisis o simplemente está ausente (ej. aleta amputada por hélice), marcar como “No Aplicable” (NA). Si se tomaron muestras para Histopatología (HP), marcar esta opción. Hacer observaciones adicionales en el espacio de abajo, haciendo referencia en cada comentario al sistema y órgano o parte con la letra y número correspondientes.

ANEXO 11

Planilla de listado de muestras utilizada por el PMSBFA en el 2013

**PLANILLA VII: LISTADO DE MUESTRAS**

Las muestras de las filas en color GRIS coleccionarlas independientemente de la condición corporal, el resto solo condición 2 ó 3.

1. Confirmar si la muestra fue tomada con un S (si) o un N (no) en el ultimo casillero.

Muestra	Tamaño	# muestras	Lugar de extracción	Conservant	Rótulo	S/N
<b>Piel</b> (si no hay piel tomar cualquier tejido para genética)	0.5 x 0.5 cm x espesor	4 En el mismo envase	Cualquier parte	Alcohol 96 % en frasco chico	ID + Skin + VR	
<b>Lesiones de Piel</b>	2x2 cm Muestra de área afectada	1	Centro de la lesión (profundo)	Whirlpack + congelar en N	ID + SkinL	
<b>Lesiones de Piel (HP)</b>	1x1 cm Muestra del área afectada y no	3	Sobre línea media dorsal, extraer del centro y el borde de la lesión de gaviota	Formol 10% en frasco chico	ID + SkinL + WCS	
<b>Piel (Enzimas /stress)</b>	0.5x0.5 Cm	4 en el mismo frasco	Zonas determinadas	Formol 10% en frasco chico	ID + Skin+MDM+ Zona	
<b>Ciámidos (genética de ciámidos)</b>	Varios	1	Crías: área genital y de los cachetes Adultos y juveniles: cortar una callosidad	Alcohol 96 % en frasco (crías) Ziploc (adultos)	ID + Cyamids + JS + Zona	
<b>Ciámidos (genética de ciámidos)</b>	5-20 ciámidos vivos	1	Crías: área genital y de los cachetes Adultos: callosidades	Whirlpack + congelar en N	ID + Cyamids + JS + Zona	
<b>Barbas CRIA (isótopos estables)</b>	2	2 En el mismo envase	Las más largas (las del medio)	Ponerla en ziploc y luego en seco	ID+Baleen VR	
<b>Barbas ADULTOS (isótopos estables)</b>	1	1	La más larga (la del medio)	Ponerla en bolsa y luego en seco	ID+Baleen VR	
<b>Barbas (genética)</b>	0.5x0.5cm	1	Base de la unión de la barba con la encía	Vial con RNAlater. Congelar a -20°C	ID+ Baleen JS	
<b>Grasa (ácidos grasos, dieta de madre)</b>	5 x 5 cm con piel y poco músculo	1	<b>Dorsal</b> (1 mt. detrás del espiráculo, todo el espesor)	Ziploc con easy zipper + congelar	ID + Blubber-dorsal axilar + CM	
<b>Grasa (ácidos grasos, dieta de madre)</b>	5 x 5 cm con piel y poco músculo	1	<b>Dorsal</b> (nivel anal, todo el espesor)	Ziploc con easy zipper + congelar	ID + Blubber-dorsal anal + CM	
<b>Grasa (Contaminantes, metales pesados)</b>	5x5 cm	2	Cualquier parte	Ziploc + Congelar	ID + Blubber	

ID: mesdíaañoPV-Ea##

(Día: fecha de reportado; ##: nro. de varamiento de la temporada)

ID:.....

Muestra	Tamaño	# muestras	Lugar de extracción	Conservante	Rótulo	S/N
<b>Humor acuoso</b> (agentes infecciosos y HABs)	Criovials 5 ml	1	Cámara anterior del ojo	Criovial + congelar en N	ID + Aqueous humour + WCS	
<b>Sangre</b> (Genética)	Criovials 5 ml	1 Sacar sangre con jeringa	Del pedúnculo o directo del corazón	Vial con RNAlater. Congelar a -20°C	ID + Blood + RNAlater	
<b>Sangre</b> (hematología)	Jeringa hepariniza da 5 ml	1	Del pedúnculo o directo del corazón	2 frotis y fijar con metanol. Tubo de ensayo. Refrigerar	ID + Blood	
<b>Sangre</b> (agentes infecciosos)	Criovial 5 ml	1 Sacar sangre con jeringa	Del pedúnculo o directo del corazón	Criovial + congelar en N	ID + Blood	
<b>Sangre para suero</b> (serología)	Mín. 10 viales de 10 ml	s/ heparina	Del pedúnculo o directo del corazón	Refrigerar y centrifugar Luego en lab. Guardar en crioviales y congelar en N	ID + Serum	
<b>Sangre</b> (HABs)	5 ml s/heparina	2	Del pedúnculo o directo del corazón	Gotas de sangre en <b>spotcards</b> chica. Congelar a -20°C	ID+blood+ HABs	
<b>Sangre</b> (patógenos infecciosos, genética)	5 ml s/heparina	2	Del pedúnculo o directo del corazón	Gotas de sangre en <b>spotcards</b> . Congelar a -20°C	ID+blood+ MU	
<b>Riñón</b> (patógenos infecciosos)	0,5 x 0,5 cm	1	Cualquier parte	Vial con RNAlater. Congelar a -20°C	ID+Kidney+ RNAlater	
<b>Riñón</b> (genética)	2 x 2 cm (1gr)	1	Cualquier parte. Adu, Juv, crías. BC inicial=1	Vial con RNAlater. Congelar a -20°C	ID+kidney+ RNAlater+JS	
<b>Riñón</b> (patógenos infecciosos)	0,5 x 0,5 cm	2	Cualquier parte	Whirlpack + congelar en N	ID+Kidney	
<b>Riñón</b> (leptospirosis)	3x3 cm	1	Cualquier parte	Whirlpack + congelar en N	ID + Kidney + Lepto	
<b>Riñón</b> (Metales pesados)	3x3 cm	2	Cualquier parte	Whirlpack + congelar en freezer	ID + Kidney +HM	
<b>Hígado</b> (patógenos infecciosos)	0,5 x 0,5 cm	2	Cualquier parte	Whirlpack + congelar en N	ID+Liver	

ID: mesdíaañoPV-Ea##

(Día: fecha de reportado; ##: nro. de varamiento de la temporada)

ID:.....

<b>Hígado</b> (agentes infecciosos)	0,5 x 0,5 Cm	1	Cualquier parte	Vial con <b>RNAlater.</b> Congelar a -20°C	<b>ID+liver+</b> <b>RNA later</b>	
<b>Hígado</b> (genética)	2 x 2 cm (1gr)	1	Cualquier parte. Adu, Juv, crías. BC inicial=1	Vial con <b>RNAlater.</b> Congelar a -20°C	<b>ID+liver+</b> <b>RNAlater+JS</b>	
<b>Hígado</b> (Metales pesados)	3x3 Cm	2	Cualquier parte	<b>Whirlpack +</b> congelar en freezer	<b>ID+liver+</b> <b>HM</b>	
<b>Hígado</b> (protozoos)	2x2	1	Órgano/lesión:	Vial de 5 ml. Congelar a -20°C	<b>ID+ Liver+</b> <b>Katie</b>	
<b>LN, Bazo, pulmón, Feto, cerebro, gónadas, glándula mamaria, placenta</b> ( <i>Brucella</i> )	3x3 cm	1 de cada órgano en diferentes Ziplocs	Cualquier parte	Ziploc + Congelar a -20°C	<b>ID +nombre del tejido+ Brucella</b>	
<b>LN</b> (agentes infecciosos)	0,5 x 0,5 cm	1 de varios LN	Cualquier parte	<b>Whirlpack+</b> congelar en N	<b>ID+LN</b>	
<b>LN</b> (protozoos)	2x2	1	Órgano/lesión:	Vial de 5 ml. Congelar a -20°C	<b>ID+ LN + Katie</b>	
<b>Placenta</b> (agentes infecciosos)	0,5 x 0,5 cm	3	Cualquier parte	<b>Whirlpack+</b> congelar en N	<b>ID+placenta</b>	
<b>Bazo</b> (agentes infecciosos)	0,5 x 0,5 cm	1	Cualquier parte	Vial con <b>RNAlater.</b> Congelar a -20°C	<b>ID+Spleen+</b> <b>RNAlater</b>	
<b>Bazo</b> (agentes infecciosos)	0,5 x 0,5 cm	2	Cualquier parte	<b>Whirlpack +</b> congelar en N	<b>ID+Spleen</b>	
<b>Estómago</b>	3x3 cm	1	Cámara fúndica o pilórica	<b>Whirlpack +</b> congelar en N	<b>ID + Stomach</b>	
<b>Contenido del estómago</b> (ID del plancton)	50 ml	1	Estómago de juveniles y adultos	Tubos plásticos de 50ml con 10% Formol	<b>ID+stomach content + formol VD</b>	
<b>Contenido del estómago</b> (ID del plancton)	50 ml	1	Estómago de juveniles y adultos	Tubos plásticos + congelar a -20°C	<b>ID+stomach content+ VD</b>	
<b>Contenido del estómago</b>	Criovials 5 ml	4	Estómago de juveniles y adultos	<b>Criovials +</b> congelar en N	<b>ID+ Stomach Content</b>	
<b>Intestino</b>	3x3 cm	1	Cualquier parte	<b>Whirlpack +</b> congelar en N	<b>ID + Intestine</b>	
<b>Contenido del intestino delgado</b> (ID del plancton)	50 ml	1	Intestino de juveniles y adultos	Tubos plásticos de 50ml con 10% Formol	<b>ID+intestine content+formol VD</b>	

ID: mesdíañoPV-Ea##

(Día: fecha de reportado; ##: nro. de varamiento de la temporada)

ID:.....



<b>Contenido del intestino delgado (ID del plancton)</b>	50 ml	1	Intestino de juveniles y adultos	Tubos plásticos + congelar a -20°C	<b>ID+intestine content+ VD</b>
<b>Contenido Intestino delgado</b>	Criovial 5 ml	2	Intestino Delgado	<b>Criovials +</b> congelar en N	<b>ID+ Small I Content</b>
<b>Heces</b>	Criovials 5 ml	4	Recto	<b>Criovials +</b> congelar en N	<b>ID+ Feces</b>
<b>Heces (ID del plancton)</b>	50 ml	1	Recto de juveniles y adultos	Tubos plásticos de 50ml con 10% Formol	<b>ID+ Feces + formol VD</b>
<b>Heces (ID del plancton)</b>	50 ml	1	Recto de juveniles y adultos	Tubos plásticos + congelar	<b>ID+ Feces + VD</b>
<b>Leche</b>	Criovials 5 ml	4	Estómago	<b>Criovials +</b> congelar en N	<b>ID+milk</b>
<b>Leche (ácidos grasos, dieta madre)</b>	10 ml	2	Esófago de crías	<b>Criovials +</b> congelar en N	<b>ID+milk+CM</b>
<b>Leche (ácidos grasos, dieta madre)</b>	10 ml	2	Estómago de crías	<b>Criovials +</b> congelar en N	<b>ID+milk+CM</b>
<b>Leche (ácidos grasos, dieta madre)</b>	10 ml	2	Glándulas mamarias de hembra adulta	<b>Criovials +</b> congelar en N	<b>ID+milk+CM</b>
<b>Orina</b>	Criovials 5ml	4	Vejiga	<b>Criovials +</b> congelar en N	<b>ID+urine</b>
<b>Orina (cetonas, condición corporal)</b>		1	Vejiga	Tiras reactivas (*)	<b>ID+urine</b>
<b>Orina (ácidos grasos, isótopos, dieta)</b>	30 ml	2	Vejiga	Botellas de 30ml + congelar a -20°C	<b>ID+urine+ VR</b>

**(\*) Urianálisis:**

<b>LEU</b> 120 seg	NEG.			15 IND.TR	70 1+	125 2+	500 3+
<b>NIT</b> 60 seg	NEG.			POSITIVO			
<b>URO</b> 60 seg	0.2	1	mg/dL		2	4	> 8
<b>PRO</b> 60 seg	NEG.	mg/dL	IND.TR	30 1+	100 2+	300 3+	> 2000 4+
<b>pH</b> 60 seg	5.0	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5
<b>SAN.BLD</b>	no-hemolizado			Hemolizado			
<b>AIMA</b> 60 seg	NEG.	IND.TR	80 2+	10 IND.TR	25 1+	80 2+	200 3+
<b>DEN.PS</b> <b>SG.EB</b> 45 seg	1.000	1.005	1.010	1.015	1.020	1.025	1.030
<b>CET.KET</b> 40 seg	NEG.	mg/dL	5 IND.TR	15 1+	40 2+	80 3+	> 160 4+
<b>BIL</b> 30 seg	NEG.				1+	2+	3+
<b>GLU.GLI</b> 30 seg	NEG.	mg/dL	100 1 IND.TR	250 1+	500 2+	1000 3+	> 2000 4+

ID: mesdíaañoPV-Ea##

(Día: fecha de reportado; ##: nro. de varamiento de la temporada)

ID:.....

# PROTOCOLO DE NECROPSIA

BALLENA FRANCA AUSTRAL

97

Muestra	Tamaño	# muestras	Lugar de extracción	Conservante	Rótulo	S/N
<b>Pulmón</b> (patógenos infecciosos)	0,5 x 0,5 cm	1	Cualquier parte o área con lesión	Poner en vial de <b>RNA later</b> . Congelar a -20°C	<b>ID+lung+RNAlater</b>	
<b>Pulmón</b> (patógenos infecciosos)	0,5 x 0,5 cm	2	Cualquier parte o área con lesión	<b>Whirlpack</b> + congelar en N	<b>ID+lung</b>	
<b>Cerebro</b> (agentes infecciosos)	0,5 x 0,5 Cm	1	Cualquier parte	Vial con <b>RNA later</b> . Congelar a -20°C	<b>ID+brain+RNAlater</b>	
<b>Cerebro</b> (genética)	2 x 2 cm (1gr)	1	Cualquier parte. Adu, Juv, crías. BC initial=1	Vial con <b>RNA later</b> . Congelar a -20°C	<b>ID+brain+RNAlater+JS</b>	
<b>Cerebro</b> (agentes infecciosos)	0,5 x 0,5 Cm	2	Cualquier parte	<b>Whirlpack</b> + congelar en N	<b>ID+Brain</b>	
<b>Cerebro (MRI)</b>	<b>completo</b>	<b>1</b>	<b>Si BC 2, Entero</b>	<b>formol 40% en ziploc grande</b>	<b>ID+Brain+WCS</b>	
<b>Cerebro</b> (protozoos)	2x2	1	Órgano/lesión:	Vial de 5 ml + Congelar a -20°C	<b>ID+ Brain + Katie</b>	
<b>Tapón de cera</b> (análisis de isotopos)	Completo	1	Cerca de base de mandíbula	Ziploc y congelar a -20°C	<b>ID+Ear Plug+VR</b>	
<b>Parásitos internos</b>	1 frasco	varios	Cualquier parte	<u>formol 3,5% en frasco</u>	<b>ID+Parasites+ lugar de extracción</b>	
<b>Hisopado virológico</b>	2 hisopados	2	Órgano/lesión:	2 VTM Congelar en N	<b>ID+nombre de tejido+hisop.</b>	
<b>Hisopado bacteriológico</b>	1 hisopado	2	Órgano/lesión:	1 Stuart, 1 en seco. Refrigerar. Mandar al labo en 24 hs	<b>ID+nombre de tejido+hisop</b>	
<b>Cordón umbilical u ombligo</b>	3x3 cm	2	Sacar sección de cordón o laterales del ombligo	<b>Whirlpack</b> + congelar en N	<b>ID + Umb.cord</b>	
<b>Músculo esquelético</b> (genética)	2 x 2 cm (1gr)	1	Cualquier parte. Adu, Juv, crías. BC initial=1	Vial con <b>RNA later</b> . Congelar a -20°C	<b>ID+muscle+RNAlater+JS</b>	
<b>Músculo esquelético</b> (protozoos)	2x2	1	Órgano/lesión:	Vial de 5 ml. Congelar a -20°C	<b>ID+ muscle + Katie</b>	
<b>Corazón</b> (genética)	2 x 2 cm (1gr)	1	Cualquier parte. Adu, Juv, crías. BC initial=1	Vial con <b>RNA later</b> . Congelar a -20°C	<b>ID+heart+RNAlater+JS</b>	

ID: mesdíaañoPV-Ea##

(Día: fecha de reportado; ##: nro. de varamiento de la temporada)

ID:.....

<b>Corazón</b> (protozoos)	2x2	1	Órgano/lesión:	Vial de 5 ml. Congelar a -20°C	<b>ID+ Heart+ Katie</b>	
<b>Testículo</b> (genética)	2 x 2 cm (1gr)	1	Cualquier parte. Adu, Juv, crías. BC initial=1	Vial con <b>RNA later.</b> Congelar a -20°C	<b>ID+testis+ RNAlater+JS</b>	

1. Confirmar si la muestra fue tomada con un S (si) o un N (no) en el ultimo casillero.
2. Agregar comentarios de ser necesario.

ID: mesdíaañoPV-Ea##

(Día: fecha de reportado; ##: nro. de varamiento de la temporada)

ID:.....

ANEXO 12

Formulario 3-177 del US Fish & Wildlife Service

Page 1 of 3

USFWS Form 3-177  
(Revised 12/06)  
O.M.B. No. 1018-0012  
Expiration Date: 12/31/2009

**U.S. FISH AND WILDLIFE SERVICE  
DECLARATION FOR IMPORTATION  
OR EXPORTATION OF  
FISH OR WILDLIFE**

**Casillero 2:** Dejar en blanco

**Casillero 3:** Tildar en Import

**Casillero 5:** "S" para científico, o ver las instrucciones para otras categorías

**Casillero 4:** Colocar las siglas del Aeropuerto de entrada

**Casillero 9:** "P" para pasajero o "S" para envíos

**Casillero 6, 10 y 12:** Dejar en blanco

**Casillero 7:** Número de vuelo en el que usted llega

**Casillero 8:** Para envío de muestras – complete con el número de ticket de vuelo y nombre de la empresa de mensajería.

**Casillero 11:** Número de contenedores que contienen las muestras.

**Casillero 13a:** Tildar el cuadrado "US Importer". Debe coincidir con el casillero 3 del CITES de exportación (Domicilio en USA)

**Casillero 14a:** Tildar el cuadrado "Foreign Exporter". Debe coincidir con el casillero 4 del CITES de Exportación. (Domicilio en Argentina) En 14b colocar AR (de Argentina)

**Casillero 15:** Sólo completar si hace un envío, incluir nombre y dirección de compañía o agente de aduana.

**Casillero 16a, 16b:** Colocar nombre científico y Nombre común en inglés.

**Casillero 17a, 17b:** 17a – colocar número de CITES de exportación otorgado para esa especie y esas muestras  
17b – colocar número de CITES de importación

**Casillero 19a:** Número total de muestras por especie  
**Casillero 19b:** Colocar el número 0

**Casillero 20:** Colocar el código del país = AR

**Casillero 22:** Firma con tinta azul

1. Date of Import/Export: (mm/dd/yyyy) 07/28/2009

2. Import/Export License Number:

3. Indicate One:  Import  Export

4. Port of Clearance: NY

5. Purpose Code: S

6. Customs Document Number (s):

7. Name of Carrier: AA 956

8. Air Waybill or Bill of Lading Number: Master: PASSENGER House:

9. Transportation Code: P License #: State or Province:

10. Bonded Location for Inspection:

11. Number of Cartons Containing Wildlife: 2

12. Markings on Cartons Containing Wildlife:

13a. (Indicate One) (Complete name/U.S. address/telephone number/e-mail address)  
 U.S. Importer  
 U.S. Exporter  
Wildlife Conservation Society  
Global Health Program  
2300 Southern Boulevard  
Bronx, NY 10460  
(718) 220-5892

13b. Identifier Number: ID Type:

13c. Identifier Number: ID Type:

14a. (Indicate One) (Complete name/foreign address/telephone number/e-mail address)  
 Foreign Importer  
 Foreign Exporter  
Dr. Marcela Uhart  
WCS, Global Health Program  
CC19  
Puerto Madryn (9120)  
Chubut, Argentina

14b. Country Code: AR

14c. Identifier Number: ID Type:

15a. Customs Broker, Shipping Agent or Freight Forwarder (Complete business name/address/telephone and fax number/e-mail address):

15b. Identifier Number: ID Type:

15c. Contact Name:

Species Code (Official Use Only)	16a. Scientific Name	17a. Foreign CITES Permit Number	18a. Description Code	19a. Quantity/Unit	20. Country of Species Origin Code (ISO Code)	21. Venomous Live Wildlife Indicator (Check if yes)
	16b. Common Name	17b. U.S. CITES Permit Number	18b. Source Code	19b. Total Monetary Value		
	Eubalaena australis	032502	SPE	6/No.	AR	<input type="checkbox"/>
	Southern right whales	08US033594/9	W	0		<input type="checkbox"/>
						<input type="checkbox"/>
						<input type="checkbox"/>

22. I certify under penalty of perjury that the information furnished is true and correct.

Signature: Marcela M. Uhart Date: 07/28/2009

Type or Print Name: Marcela M. Uhart

Wildlife Declaration: None / Partial / Full

Wildlife Inspection: None / Partial / Full

VOID

See Reverse Side of this Form for Privacy Act Notice

Complete el USFWS 3-177 (Declaration for Importation or Exportation of Wildlife) y firme con tinta azul. La lista de muestras debe ser exactamente igual a la planilla de inventario de muestras. El 3-177 puede bajarse de internet desde: <http://www.fws.gov/le/pdf/3-177-1.pdf>  
Las instrucciones para el llenado del formulario pueden encontrarse en: <http://www.fws.gov/le/pdf/3-177ins.pdf>

## ANEXO 13

### Ejemplo de inventario de muestras transportadas


*Sample Import Inventory*

**Date of Import:** *COLOCAR LA FECHA EN LA QUE INGRESARA A USA* **Total Number of Samples:** *12*

Common Name	Scientific Name (Genus species)	Country	Field Site & GPS Location	Source (captive/wild)	Sex/Age	Sample Type (e.g. serum)	# of samples (e.g. # of tubes) and total volume	Preservation Method (if any e.g. formalin)
Ballena franca austral	<i>Eubalaena australis</i>	Argentina	Chubut	wild	calf	tissues	12 jars/ 40 ml	Alcohol 96°
<b>Totals</b>							<b>12 JARS/ 40 ml</b>	


# ANEXO 14

## Formulario EXPO-IMPO de la Dirección Nacional de Fauna y de acceso a recursos genéticos

ANEXO II	
 <b>JEFATURA DE GABINETE DE MINISTROS</b> Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable  <b>DIRECCIÓN NACIONAL DE ORDENAMIENTO AMBIENTAL Y CONSERVACIÓN DE LA BIODIVERSIDAD</b>	<b>FORMULARIO DE SOLICITUD DE ACCESO, EXPORTACION O IMPORTACION DE MATERIAL GENETICO PROVENIENTE DE LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA</b>
<b>TRAMITE INTERNO N°</b> Colocar en casilleros 1, 2, 3 y 4 los mismos datos que fueron escritos como TITULAR en el "Formulario EXPO-IMPO" de la Direc. De Fauna Nación	
E-MAIL:	
<b>DATOS DEL PROVEEDOR:</b> Casillero 1	INSTITUCION: Casillero 2 DOMICILIO: Casillero 3 TEL. Casillero 4
<b>DATOS DEL SOLICITANTE:</b> Casillero 5	INSTITUCION: Casillero 6 DOMICILIO: Casillero 7 TEL. Casillero 8
<b>ESPECIES NOMBRE COMÚN Y CIENTÍFICO, TIPO Y CANTIDAD EN LETRAS Y NÚMEROS :DEL MATERIAL GENETICO CUYO ACCESO SE SOLICITA</b>	
Descripción de ejemplo: - 12 (doce) muestras de tejidos de 6 ejemplares de ballena franca austral ( <i>Eubalaena australis</i> ) conservados en alcohol 96º. Total = 6 frascos de 40 ml  DEBE ESTAR IGUAL REDACTADA QUE EN EL FORMULARIO EXPO-IMPO DE LA DIREC. DE FAUNA NACION	
Colocar en casilleros 5, 6, 7 y 8 los mismos datos que fueron escritos como DESTINATARIO en el "Formulario EXPO-IMPO" de la Direc. De Fauna Nación	
<b>OBJETIVO/S DE LA ACTIVIDAD:</b> Colocar el nombre del Proyecto	
ADJUNTA PROYECTO SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>	<b>AREA/S GEOGRAFICA DE PROSPECCION:</b> Provincia y lugar de muestreo. Ej. Chubut, Península Valdés.
ADJUNTA DOCUMENTO DE AUTORIZACION DE LA/S AUTORIDAD/ES LOCAL/ES CONCEDENTE/ES QUE ACREDITE LEGITIMA TENENCIA Y OBTENCION DEL MATERIAL SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>	ADJUNTA DOCUMENTO QUE CONTEMPLA DISTRIBUCION DE BENEFICIOS SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
REQUIERE CITES SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>	REQUIERE CERTIFICADO FLORA/FAUNA SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
FECHA DE INICIO DE LA ACTIVIDAD / / PLAZO DE LA ACTIVIDAD / /	BUENOS AIRES ___/___/___ DOCUMENTO VALIDO HASTA: ___/___/___
Colocar firma y aclaración. En el caso de ser una persona autorizada a realizar los trámites, se coloca la palabra: AUTORIZADA/O  Firma, aclaración y carácter del firmante	
PRESENTAR POR TRIPLICADO	
Firma y sello funcionario autorizado ante la Dirección General de Aduana	

A COMPLETAR POR EL USUARIO EN CARACTER DE DECLARACION JURADA

**Nota:** La Autoridad concedente podrá solicitar otros requisitos o información complementaria, de acuerdo con lo declarado por el solicitante.




A COMPLETAR POR EL USUARIO EN CARACTER DE DECLARACION JURADA	 <p>JEFATURA DE GABINETE DE MINISTROS Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable</p> <p>DIRECCIÓN DE FAUNA SILVESTRE</p>		<input checked="" type="checkbox"/> EXPORTACIÓN <input type="checkbox"/> IMPORTACIÓN <input type="checkbox"/> RE-EXPORTACIÓN <input type="checkbox"/> TROFEO DE CAZA	TRAMITE INTERNO N°	
	LEY 22.421 DE CONSERVACIÓN DE LA FAUNA Y DECRETO REGLAMENTARIO N° 10.000/01				
	TITULAR:		DOMICILIO:	TEL.	Colocar nombre, domicilio y teléfono de persona y/o institución que solicita la Exportación (debe ser una dirección de Argentina). Lo que se coloque aquí luego estará ubicado en el casillero N° 4 (Titular) del CITES de Exportación
			DEPOSITO:	TEL.	
	PAIS DE DESTINO <input checked="" type="checkbox"/> DESTINO <input type="checkbox"/> ORIGEN <input type="checkbox"/> PROCEDENCIA:		Estados Unidos de América (o el país que corresponda)		
	<input checked="" type="checkbox"/> DESTINATARIO <input type="checkbox"/> REMITENTE: DOMICILIO:		Colocar nombre, domicilio de persona y/o institución que recibirá las muestras. Lo que se coloque aquí luego estará ubicado en el casillero N° 3 (Destinatario) del CITES de Exportación		
	DESCRIPCIÓN DE ANIMALES VIVOS, PRODUCTOS Y SUBPRODUCTOS DE LA FAUNA SILVESTRE, NOMBRE COMÚN Y CIENTÍFICO, CANTIDAD EN LETRAS Y NÚMEROS Y VALOR POR ESPECIE EN PESOS:				
	Descripción de ejemplo: - 12 (doce) muestras de tejidos de 6 ejemplares de ballena franca austral ( <i>Eubalaena australis</i> ) conservados en alcohol 96°. Total = 6 frascos de 40 ml				
	VALOR FOB TOTAL EN PESOS EN LETRAS Y NÚMEROS: (Los valores consignados son de estricta responsabilidad del solicitante)		COTIZACION DEL USD A LA FECHA EN LETRAS Y NÚMEROS: TOTAL EN USD:		
	POSICIÓN NCM:		REQUIERE CITES SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> Marcar con una cruz		
<input checked="" type="checkbox"/> FECHA DE EMBARQUE 01/ 08/ 13 <input type="checkbox"/> FECHA DE ARRIBO / / <input checked="" type="checkbox"/> LUGAR DE EMBARQUE Ezeiza <input type="checkbox"/> LUGAR DE ARRIBO / / Colocar firma y aclaración. En el caso de ser una persona autorizada a realizar los trámites, se coloca la palabra: <b>AUTORIZADA/O</b> Firma, aclaración y carácter del firmante		BUENOS AIRES _ / _ / _ DOCUMENTO VALIDO HASTA: _ / _ / _ DFS N° _____ Marcar con una cruz y colocar una fecha estimada de viaje si no se sabe exactamente			
Presentar por Cuadruplicado Marcar con una cruz la opción elegida		Firma y sello funcionario autorizado ante la Dirección General de Aduana			

A COMPLETAR POR LA DFS

ANEXO 15

CITES de exportación con la firma en el casillero 13 de Aduana Argentina

EL PRESENTE PERMISO CERTIFICADO SERA VALIDO UNICAMENTE SI LOS ANIMALES VIVOS SE TRASLADAN CONFORME A LAS DIRECTRICES CITES PARA EL TRANSPORTE Y LA PREPARACION DE ANIMALES Y PLANTAS Y SI SE TRASLADAN POR VIA AEREA LA REGLAMENTACION SOBRE ANIMALES VIVOS PUBLICADOS POR IATA.

 <b>JEFATURA DE GABINETE DE MINISTROS</b> SECRETARIA DE AMBIENTE Y DESARROLLO SUSTENTABLE		<b>LEY 22344</b> CONVENCION SOBRE EL COMERCIO INTERNACIONAL DE ESPECIES AMENAZADAS DE FAUNA Y FLORA SILVESTRES CONVENTION ON INTERNATIONAL TRADE IN ENDANGERED SPECIES OF WILD FAUNA AND FLORA 		EXPORTACION Export <input checked="" type="checkbox"/>	<b>PERMISO ORIGINAL</b> Original permit  <b>Nº 038054</b>
				REEXPORTACION Re-export <input type="checkbox"/>	
				IMPORTACION Import <input type="checkbox"/>	2. VALIDO HASTA EL Valid until
3. DESTINATARIO (NOMBRE Y DIRECCION, PAIS) Consignee (name and address, country)  ACA COLOCAN EL NOMBRE QUE FUE INDICADO COMO DESTINATARIO EN EL "FORMULARIO IMPO-EXPO". TIENE DOMICILIO EN EL EXTERIOR			4. TITULAR (NOMBRE Y DIRECCION, PAIS) Consignor (name and address, country)  ACA COLOCAN EL NOMBRE QUE FUE INDICADO COMO TITULAR EN EL "FORMULARIO IMPO-EXPO". TIENE DOMICILIO EN ARGENTINA		
5. CONDICIONES ESPECIALES Special conditions <b>MATERIAL CIENTIFICO (S)</b>			6. NOMBRE, DIRECCION, SELLO/ TIMBRE NACIONAL DE LA AUTORIDAD ADMINISTRATIVA Name, address, seal/national stamp of the Management Authority <b>DIRECCION NACIONAL DE ORDENAMIENTO AMBIENTAL Y CONSERVACION DE LA BIODIVERSIDAD</b> SAN MARTIN 459 - CAPITAL FEDERAL - 1004 - BUENOS AIRES - REPUBLICA ARGENTINA		
7. NOMBRE COMUN DEL ANIMAL O PLANTA Common name of the animal or plant	8. NOMBRE CIENTIFICO DEL ANIMAL O PLANTA Scientific name of the animal or plant GENERO Genus      ESPECIE Species	9. DESCRIPCION PARTE O DERIVADO MARCAS O NUMEROS DE IDENTIFICACION (EDAD, SEXO SI VIVOS) Description of part or derivative, marks or numbers (age/sex if live)	10. APENDICE Nº Y PROVENIENCIA (W.C.A. o O) Appendix Nº and origin	11. CANTIDAD: NUMERO DE ESPECIMENES Y/O PESO NETO Y/O VOLUMEN Quantity number of specimens and/or weight and/or volume	
<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>		
<b>BALLENA FRANCA AUSTRAL</b>	<b>Eubalaena australis</b>	<b>12 Muestras de Tejidos conservadas en alcohol 96º en frascos</b>	<b>W. I</b>	<b>6 Ejemplares</b>	
			PAIS DE ORIGEN Country of origin <b>Argentina</b>	PERMISO Nº Permit nº	
			PAIS DE PROCEDENCIA	PERMISO Nº	
			PAIS DE ORIGEN Country of origin	PERMISO Nº Permit nº	
			PAIS DE PROCEDENCIA	PERMISO Nº	
			PAIS DE ORIGEN Country of origin	PERMISO Nº Permit nº	
			PAIS DE PROCEDENCIA	PERMISO Nº	
12. ESTE PERMISO ES EMITIDO POR LA AUTORIDAD COMPETENTE This permit is issued by the following authority: LUGAR Y FECHA Place and Date: <b>Buenos Aires</b> Nº ESTAMPILLA DE SEGURIDAD Nº security stamp: <b>0858991</b> AR					
INTERVENCION ADUANERA			14. CONOCIMIENTO DE EMBARQUE/CARTA DE PORTE AEREO Shipping manifesto / Bill of Lading / Air way - Bill Number		
13. APROBACION DE LA EXPORTACION / RE-EXPORTACION Export/Re-export Endorsement					
VER ITEM 7 See item 7		TOTAL			
<b>A</b>					
<b>B</b>					
<b>C</b>					
<b>D</b>					
PUERTO DE EXPORTACION / RE-EXPORTACION Port of export/re-export			FECHA Date		FIRMA Signature
					SELLO Y CARGOS OFICIALES Seal and rank of officer
<b>ORIGINAL PARA PAIS IMPORTADOR / EXPORTADOR</b>					

El casillero 13 debe ser completado por el fiscalizador de ADUANA en EZEIZA (Argentina) al momento de viajar con las muestras y debe colocar la firma en el casillero 14

EDUARDO ALVAREZ  
 DIRECCION NACIONAL DE ORDENAMIENTO AMBIENTAL Y CONSERVACION DE LA BIODIVERSIDAD