



UNIVERSIDAD DE CHILE
 FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
 ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA



“INMOVILIZACIÓN QUÍMICA A DISTANCIA DE GUANACOS
 (*Lama guanicoe*) SILVESTRES UTILIZANDO LA COMBINACIÓN
 MEDETOMIDINA/KETAMINA/ATIPAMEZOLE”

MARÍA GABRIELA GAETE PAUCHARD

MEMORIA PARA OPTAR AL
 TÍTULO PROFESIONAL
 DE MÉDICO VETERINARIO
 Departamento de Ciencias Biológicas

NOTA FINAL:

		NOTA	FIRMA
PROFESOR GUÍA:	PEDRO CATTAN AYALA
PROFESOR CONSEJERO:	BESSIE URQUIETA MANGIOLA.....
PROFESOR CONSEJERO:	ESTEFANÍA FLORES PAVEZ

SANTIAGO-CHILE
 2008

INDICE

RESUMEN	3
SUMMARY	5
INTRODUCCIÓN	7
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	9
CAPTURA DE ANIMALES SILVESTRES	9
EL GUANACO	9
INMOVILIZACIÓN QUÍMICA DEL GUANACO	12
OBJETIVOS	19
MATERIALES Y MÉTODOS	20
ÁREA DE ESTUDIO	20
ANIMALES.....	20
PROTOCOLO DE CAPTURA	20
TOMA DE MUESTRAS	21
DATOS REGISTRADOS.....	21
ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS	22
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	23
RESULTADOS	24
PROCEDIMIENTO DE CAPTURA.....	24
VARIABLES ANESTESIOLÓGICAS	24
VARIABLES FISIOLÓGICAS.....	25
VARIABLES HEMATOLÓGICAS.....	26
CORRELACIONES ENTRE VARIABLES.....	26
DISCUSIÓN	28
PROCEDIMIENTO DE CAPTURA.....	28
VARIABLES ANESTESIOLÓGICAS	28
VARIABLES FISIOLÓGICAS.....	29
VARIABLES HEMATOLÓGICAS.....	31
CONCLUSIONES	36
IMPLICANCIAS DE ESTE ESTUDIO.....	36
BIBLIOGRAFÍA	38
ANEXOS	46
ANEXO 1: PESO CORPORAL E IDENTIFICACION.	46
ANEXO 2: VARIABLES ANESTESIOLÓGICAS INDIVIDUALES.	47
ANEXO 3: VARIABLES FISIOLÓGICAS INDIVIDUALES.....	47
ANEXO 4: VARIABLES HEMATOLÓGICAS INDIVIDUALES.....	48

RESUMEN

La captura y manipulación de animales silvestres es con frecuencia necesaria para la realización de estudios de campo, siendo la inmovilización química la forma más segura de llevarla a cabo. En el presente estudio se utilizó la combinación medetomidina/ketamina para lograr la inmovilización química a distancia de guanacos silvestres y atipamezol como antagonista. Se evaluó su efecto en variables fisiológicas como las frecuencias cardíaca y respiratoria y la temperatura rectal, en variables anestesiológicas como tiempos y dosis de sedación y en variables hematológicas indicadoras de estrés usadas comúnmente en guanacos, como son la relación neutrófilos:linfocitos (N:L) y concentración sérica de cortisol.

El estudio se realizó en el Parque Nacional Torres del Paine, donde se inmovilizaron diez individuos adultos mediante la inyección a distancia con dardos plásticos de 3 mL utilizando un rifle de CO₂ comprimido (Telinject®, modelo G.U.T. 50). Los dardos fueron cargados con la combinación de medetomidina (0,1 mg/Kg; Zalopine® 10 mg/mL) y ketamina (2 mg/Kg; Imalgene® 10%). Después de la inyección efectiva de la droga, la inducción anestésica demoró $8,7 \pm 8,07$ minutos. Las variables fisiológicas mencionadas se registraron a los 10 y 20 minutos de iniciada la manipulación. A los 30 minutos se tomó una muestra de sangre para la realización de frotis para recuento diferencial de leucocitos y para la obtención de suero. Luego de 45 minutos de inmovilizado el animal, se administró atipamezol (0,12 mg/Kg; Antisedan® 5 mg/mL) por vía intramuscular para revertir los efectos de la medetomidina. Después de esto, los animales adoptaron la posición normal de pie a los $8,2 \pm 5,31$ minutos. El recuento diferencial de leucocitos mostró un $68,15 \pm 17,32\%$ de linfocitos y $27,63 \pm 16,57\%$ de neutrófilos, con una relación neutrófilos:linfocitos de $0,61 \pm 0,73$. El cortisol sérico medido mediante radioinmunoanálisis (RIA) fue $88,22 \pm 27,68$ nmol/L.

Los tiempos de inmovilización registrados se ajustan a lo reportado anteriormente para otras especies, siendo altamente predecibles. Los efectos de la inmovilización sobre variables anestesiológicas incluyeron leve disminución de temperatura rectal y frecuencia respiratoria, con una bradicardia propia de los agonistas α -2. La sedación producida por la medetomidina fue revertida completamente con el uso de atipamezol, sin mostrar los animales signos de incoordinación. En cuanto a las proporciones de leucocitos registradas, éstas resultaron ser

inversas a las descritas en la literatura, con predominio marcado de linfocitos, lo que se refleja en una relación N:L muy por debajo del rango normal. La concentración sérica de cortisol se encuentra cercana al máximo descrito para la especie. Esto podría deberse al reportado aumento de cortisol que induce la medetomidina. Sin embargo, no es posible distinguir entre este efecto y otras posibles alteraciones relacionadas al cambio en la relación N:L.

De los resultados obtenidos en el presente estudio se desprende que la combinación medetomidina/ketamina/atipamezol es segura para su uso en guanacos silvestres. Sin embargo, es necesaria mayor investigación para tener una aproximación más certera a las causas de la alteración observada en la concentración sérica de cortisol y en las proporciones de neutrófilos y linfocitos.

SUMMARY

Research regarding wildlife often requires the capture and handling of free-ranging animals, being chemical immobilization the safest way in achieving it. In this study, a medetomidine/ketamine protocol was used to chemically immobilize free-ranging guanacos and atipamezole for reversal. Its effects on physiological variables such as respiratory and cardiac rate and rectal temperature, on anaesthesiology variables such as drugs doses and action times and on haematologic variables commonly used as stress indicators in guanacos such as neutrophil:lymphocyte ratio (N:L) and serum cortisol were measured.

The study was conducted in Torres del Paine National Park, where ten adult animals were immobilized using 3 mL plastic darts, projected with a CO₂ powered gun (Telinject®, model G.U.T. 50). Darts were filled with medetomidine (0.1 ± 0.01 mg/kg; Zalopine® 10 mg/mL) and ketamine (2.04 ± 0.22 mg/Kg; Imalgene® 10%). After the effective injection of the drugs, anaesthetic induction was achieved at 8.7 ± 8.07 minutes. The mentioned physiologic variables were measured 10 and 20 minutes after handling began. Blood samples were taken at 30 minutes in order to obtain blood smears for differential leukocyte count and serum samples for cortisol determination. Atipamezole (0.12 ± 0.04 mg/Kg; Antisedan® 5 mg/mL) was administered intramuscularly at 45 minutes for reversal. Normal standing position was achieved at 8.2 ± 5.31 minutes. The leukocyte differential count showed $68.15 \pm 17.32\%$ lymphocytes and $27.63 \pm 16.57\%$ neutrophils, with a N:L ratio of 0.61 ± 0.73 . Serum cortisol was measured with radioimmunoassay (RIA), with an average 88.22 ± 27.68 nmol/L.

Action time of the drugs was similar to those reported for other species, being highly predictable. The effects of immobilization on anaesthesiology variables included a mild decrease in rectal temperature and respiratory rate, with an α -2 agonist-related bradycardia. Sedation reversal with the use of atipamezole was achieved completely, with the animals showing no signs of incoordination. In regard to differential leukocyte counts, the results are not equal to any of the described in the literature for this species, being lymphocytes the dominant cell type, which is also shown in the N:L ratio far below the reported earlier. Serum cortisol measured is near the maximum level obtained in this species. This could be due to the reported rise in serum cortisol induced by medetomidine. However it is not possible to

determine the difference between the mentioned effect and other alterations related to the change in N:L ratio.

From the results presented in this study it can be concluded that medetomidine/ketamine combination and atipamezole for reversal is safe for its use in free-ranging guanacos. Although, more investigation is required in order to have a more accurate approximation to the causes of the observed disturbance in serum concentration of cortisol and neutrophil and lymphocyte proportions.

INTRODUCCIÓN

Los esfuerzos de conservación de animales silvestres en su medio natural imperiosamente requieren conocimiento acabado sobre su fisiología y ecología. Para llevar a cabo este tipo de estudios, muchas veces es necesario capturar animales en su medio natural, ya sea para marcaje y seguimiento a distancia; toma de muestras biológicas para estudios fisiológicos, sanitarios o genéticos; traslocación de individuos entre poblaciones o incluso a cautiverio.

A grandes rasgos, la captura de animales silvestres de vida libre puede realizarse utilizando dos técnicas: la captura física, donde los individuos generalmente son dirigidos a una trampa –que varía en sus características dependiendo del animal a capturar– donde luego es restringido para realizar los procedimientos pertinentes al estudio. Otra forma de capturar animales es a través de la inmovilización química, que consiste en la inyección de drogas con el fin de disminuir las capacidades locomotoras y sensoriales hasta un grado que permita su manipulación segura. (Osofsky y Hirsch, 2000). La captura física, si bien permite coleccionar varios individuos a la vez, no permite seleccionar los individuos a capturar y es un procedimiento altamente estresante, donde no es raro ver animales heridos por tratar de escapar o que mueren días después del procedimiento por miopatía. La captura química en cambio, al permitir capturar sólo un individuo a la vez, es mucho más selectiva y se evitan las complicaciones derivadas de los intentos de escape.

El guanaco (*Lama guanicoe*), camélido perteneciente al orden de los artiodáctilos, es el herbívoro terrestre más grande de Chile. Debido a la caza excesiva durante el siglo XIX y XX, su población sufrió una drástica disminución. Gracias al esfuerzo realizado creando zonas protegidas y prohibiendo su caza, se ha logrado mejorar su estatus poblacional, especialmente en la zona más austral de su distribución.

El guanaco ha sido capturado en el contexto de estudios productivos, ecológicos y de monitoreo, con diversos fines, incluyendo traslocación de individuos, estudios sanitarios, genéticos y conductuales.

En el marco de la inmovilización química, se han probado diversos protocolos en guanacos, incluyendo drogas como: succinilcolina, xilazina, carfentanil y la asociación tiletamina/zolazepam, con resultados variables. Además se ha probado la combinación

medetomidina/ketamina en varios ungulados en cautiverio, incluyendo guanacos y otros camélidos como el camello bactriano y la llama (Jalanka y Roeken, 1990). La medetomidina, un agonista α -2-adrenoceptor, es un fármaco de gran potencia y amplio margen de seguridad. Sus efectos depresores cardiovasculares se contrarrestan con el uso de la ketamina y tiene la ventaja de contar con un efectivo antagonista: atipamezol. Esta combinación ha sido probada preliminarmente en guanacos de vida libre en el intento de encontrar un protocolo ideal (Venegas, 2006).

El presente estudio reporta el impacto de la inmovilización química mediante el uso de la combinación medetomidina/ketamina y atipamezol como antagonista, sobre variables fisiológicas y anestesiológicas y sobre la respuesta hematológica de estrés de guanacos silvestres. Esto se realizó en el Parque Nacional Torres del Paine (XII Región de Magallanes), donde existe una población estable de guanacos habituados a la presencia humana.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Captura de animales silvestres

Las metodologías de investigación en animales silvestres suelen requerir la manipulación de animales, la mayoría de las veces para marcarlos, ajustar radiocollares para el seguimiento telemétrico u obtener muestras para estudios sanitarios, genéticos o fisiológicos (Osofsky y Hirsch, 2000).

La captura de animales silvestres puede lograrse mediante variados métodos. Un tipo de captura contempla la restricción de la capacidad de movimiento del animal por medios de contención físicos. Incluye el uso de bomas, redes, trampas, arreo hacia corral, etc. Estos métodos se ocupan en ungulados cuando se requiere capturar a un grupo de individuos y no es necesario discriminar ni seleccionar los animales (McKenzie, 1993).

La captura mediante la inmovilización química, contempla una anestesia parcial que induzca la disminución de las capacidades locomotoras y sensoriales del animal, hasta un grado que permita su manipulación (Osofsky y Hirsch, 2000).

Para lograr la captura química de herbívoros se deben tener en cuenta ciertos puntos. En primer lugar, el período de inducción debe ser lo más corto posible para evitar que el animal se aleje demasiado y disminuir la posibilidad de fatiga. Además, es altamente recomendable trabajar con una droga que cuente con un antagonista, puesto que una recuperación prolongada, con ataxia y caídas frecuentes, puede causar daño al animal, además de dejarlo expuesto a la depredación (McKenzie, 1993).

El guanaco

Taxonomía

Los camélidos sudamericanos están clasificados junto con los camellos bactriano (*Camelus bactrianus*) y dromedario (*Camelus dromedarius*) en la familia *Camelidae*, del orden *Artiodactyla* (suborden *Ruminantia*). En Sudamérica se encuentra el género *Vicugna*, al que pertenece la vicuña (*V. vicugna*) y alpaca (*V. pacos*; Marín *et al.*, 2007) y el género *Lama*, donde están incluidos la llama (*L. glama*) y guanaco (*L. guanicoe*). En este último se describen cuatro

subespecies: *L. g. cacsiliensis*, *L. g. voglii*, *L. g. guanicoe* y *L. g. huanacus*, difiriendo principalmente en tamaño, coloración y distribución geográfica (Fernández-Baca, 1991; Wheeler, 1995; González *et al.*, 2006). Sin embargo, estudios genéticos recientes basados en ADN mitocondrial no reconocen tal diferenciación (Marín *et al.*, 2007; Marín *et al.*, 2008).

Distribución

En la actualidad, el guanaco se encuentra desde Perú (8°S) hacia el sur a ambos lados de la Cordillera de los Andes, a través de la Patagonia argentina y chilena hasta Tierra del Fuego e Isla Navarino (55°S), habitando todo tipo de ambientes: áridos, semiáridos, montañosos, estepa y bosque templado (González *et al.*, 2006).

Características generales

El guanaco es el camélido más grande de Sudamérica, el largo total (desde la nariz a la cola) va entre 152 a 215 cm (González *et al.*, 2006) y su peso reportado es de 120 Kg en Tierra del Fuego (Cunazza, 1991; González *et al.*, 2006) y 80 Kg en la Patagonia (González *et al.*, 2006). La cabeza es color gris oscuro, el pelaje en el lomo y cuello es café rojizo, mientras que en el pecho, vientre y cara interna de las extremidades es de color blanco. No existe dimorfismo sexual evidente (Cunazza, 1991).

Fisiología reproductiva

La temporada de monta ocurre un mes después del parto, siendo la ovulación inducida por la monta (Fowler, 1989). El período de gestación es de 345 a 360 días, variando la temporada de parición según la latitud: en Tierra del Fuego esto ocurre desde diciembre a febrero, mientras que en Perú es de abril hasta principios de junio (Fernández-Baca, 1991; Garay *et al.*, 1995). Las crías se alimentan de leche materna hasta su destete, que ocurre alrededor de los 7 meses de edad, permaneciendo junto a sus madres hasta que son expulsadas del grupo familiar (Fowler, 1989). Este grupo familiar es la base de la estructura social de las poblaciones de guanacos, compuesto por varias hembras y sus crías y un macho dominante que defiende un territorio. También hay machos solitarios y grupos de machos (Garay *et al.*, 1995; Ortega y Franklin, 1995). Este macho dominante es el que expulsa a los juveniles a los 15 a 18 meses de edad durante de la temporada de monta. Los machos se unen a grupos de

machos solitarios y las hembras a otros grupos familiares (Fernández-Baca, 1991; Sarno *et al.*, 2003).

Alimentación

En cuanto a su alimentación, el guanaco puede clasificarse como oportunista o de “selectividad intermedia”, debido a que incluyen gran parte de las especies vegetales disponibles en su dieta y son capaces de adaptarse a un amplio rango de forrajes (Puig *et al.*, 1996; Baldi *et al.*, 2004; González *et al.*, 2006). Su consumo de forraje es bajo, aunque son altamente eficientes en la digestión de especies vegetales fibrosas y de baja calidad (Puig *et al.*, 1996). El preferido es el estrato herbáceo, sobretodo en verano, donde es más abundante. Durante el invierno, es capaz de comer arbustos e incluso árboles (Cunazza, 1991; González *et al.*, 2006). Su flexibilidad para cambiar de fuente nutricional de acuerdo a preferencias o disponibilidad va desde el consumo de líquenes y cactáceas en la costa del Desierto de Atacama hasta el ramoneo en el bosque deciduo magallánico (González *et al.*, 2006). Esta facilidad con la que el guanaco alterna entre el pastoreo y el ramoneo es considerada como uno de los principales factores determinantes de su amplia distribución (Puig *et al.*, 1996).

Estatus de conservación

Durante la época prehispánica, la distribución del guanaco se extendía por todo el territorio argentino y chileno, la zona occidental de Perú, el oriente de Bolivia y la región noroccidental del chaco del Paraguay, estimándose su población en 30 a 50 millones de animales (Raedeke, 1979). Durante el siglo XIX debido principalmente a la cacería indiscriminada y a la introducción de ganado ovino, la población disminuyó a casi 7 millones (Fernández-Baca, 1991), contabilizándose en Chile una población no mayor a 15 mil ejemplares al año 1972 (Cunazza, 1991). Esta drástica disminución gatilló esfuerzos de conservación en los distintos países afectados, mediante acciones como la prohibición de caza y la creación de áreas protegidas (Cunazza, 1991; Fernández-Baca, 1991). En Chile, en 1972 la CONAF (Corporación Nacional Forestal) inició acciones concretas de conservación en Tierra del Fuego, por ser la zona de mayor densidad, ampliándose a otras regiones en el año 1980 (Cunazza, 1991).

Actualmente, la población total de guanacos se estima en 840.000 animales, teniendo distintos estatus de conservación según el país. En Argentina, por tener el 91% de la población

total, es considerado fuera de peligro o potencialmente vulnerable, mientras que en Chile, con aprox. el 9% de la población, se considera como vulnerable, aunque en la Región de Magallanes se encuentra fuera de peligro. En Perú, Bolivia y Paraguay, donde las poblaciones existentes son muy reducidas, se considera en peligro (González *et al.*, 2006). La Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES) lo incluye en el Apéndice II, el que considera especies que no se encuentran necesariamente en peligro de extinción, pero cuyo comercio debe controlarse a fin de evitar una utilización incompatible con su supervivencia o porque su inclusión facilita el control de otras especies, estando permitida la importación o exportación con fines comerciales (Iriarte *et al.*, 2003).

Inmovilización química del guanaco

Antecedentes

Los reportes sobre captura química de guanacos son escasos, el uso de fármacos ha sido limitado en comparación a otras especies de ungulados (Jalanka y Roeken, 1990; McKenzie, 1993; Kreeger *et al.*, 2002). Se ha requerido inmovilizar animales para marcaje y seguimiento en estudios conductuales (Sarno *et al.*, 1996), para estudios sanitarios (Karesh *et al.*, 1998) y para obtener muestras biológicas para estudios genéticos (Marín *et al.*, 2007), principalmente.

Las primeras experiencias en este camélido silvestre fueron con clorhidrato de succinilcolina (bloqueador neuromuscular depolarizante), utilizado en dosis de 0,6-0,7 mg/Kg; sin embargo, de los siete individuos inmovilizados en este caso dos murieron, uno de ellos con una dosis de 0,55 mg/Kg (inferior a la recomendada), lo que ilustra claramente la mayor deficiencia de este fármaco: su bajo margen de seguridad y alta mortalidad por sobredosis (Raedeke, 1976).

De Lamo y Garrido (1983) utilizaron clorhidrato de xilazina, un derivado de los bloqueadores α_2 -adrenérgicos que al ser usado por sí solo, en dosis de 0,5 mg/Kg, induce leve relajación, pero no provee una inmovilización completa, por lo que no permite capturar animales desde su medio natural. Venegas (2006) reporta el uso de xilazina en combinación con clorhidrato de ketamina en dosis de 5,0-7,5 y 1,3 mg/Kg respectivamente, logrando inmovilizar sólo 1 de 4 individuos.

Karesh *et al.* (1998) describen el uso de carfentanil (25-30 ug/Kg) logrando inmovilizar todos los animales, además en este caso se revirtió la sedación con el uso de naltrexone; sin embargo, este fármaco implica un alto riesgo de manipulación, debido a su gran potencia y al hecho que es rápidamente absorbible por mucosas y heridas de piel (McKenzie, 1993; Kreeger *et al.*, 2002).

La asociación tiletamina/zolazepam se distribuye de forma comercial en proporción 1:1 (Zoletil®, Letizol®, Telazol®), de modo que la dosis de preanestésico (zolazepam) antagoniza los efectos secundarios de la droga disociativa de alto poder, la tiletamina (McKenzie, 1993; Flores y Cattaneo, 2000; Kreeger *et al.*, 2002). Esta asociación se ha utilizado en guanacos silvestres en dosis de 5-6 mg/Kg con resultados variables, concluyendo en general que no es el protocolo ideal, debido a la excesiva salivación, temores musculares y prolongado tiempo de recuperación (Sarno *et al.*, 1996; Karesh *et al.*, 1998; Venegas, 2006).

Recientemente se ha introducido el uso de la asociación medetomidina/ketamina y atipamezol como antagonista para la captura de animales silvestres (McKenzie, 1993; Kreeger *et al.*, 2002). Esta asociación farmacológica ha sido probada en una amplia variedad de ungulados en cautiverio, incluyendo al reno noruego (*Rangifer tarandus tarandus*), ciervo de cola blanca (*Odocoileus virginianus*), íbice (*Capra ibex ibex*), gamo (*Dama dama*), axis (*Cervus axis*), camello bactriano (*Camelus bactrianus*), llama (*Lama glama*) y guanaco (*Lama guanicoe*), entre otros (Jalanka y Roeken, 1990). En cuanto a ungulados silvestres, se ha descrito su uso en oryx de Arabia (*Oryx leucoryx*) (Greth *et al.*, 1993) y en ciervo porcino (*Axis porcinus*) (Arnemo *et al.*, 2005), por nombrar algunos. Venegas (2006) reporta, además, su uso preliminar en guanacos, logrando inmovilizar el 100% de los animales sin complicaciones.

Medetomidina

La activación de los receptores α -2 adrenérgicos media una variedad de efectos, incluyendo sedación, analgesia, hipotensión, bradicardia. (Venkatamaran y Naga Rani, 1993). Los fármacos agonistas α -2 adrenérgicos disponibles son xilazina, detomidina, medetomidina y romifidina, considerados y clasificados en anestesiología como analgésicos, sedantes y relajantes musculares (Botana *et al.*, 2002). Cada uno de ellos puede ser utilizado por sí solo para la sedación y manipulación de animales silvestres, particularmente ungulados, teniendo en consideración que, por la acción de cualquier estímulo externo, el individuo sedado puede ser despertado e incluso reaccionar con ataques directos a quienes lo están manipulando. Es por

esto que en general son utilizados en combinación con opioides o ciclohexaminas (Kreeger, 2002).

La medetomidina es el más potente de los agonistas α -2, con una gran especificidad y afinidad por el receptor (mil veces superior a la de la xilazina; Botana *et al.*, 2002). El uso de medetomidina por vía intramuscular (IM) o subcutánea (SC) induce sedación, analgesia y relajación muscular en dosis de 0,1 mg/Kg. Los efectos hipnóticos o anestésicos son logrados mediante el uso de altas dosis (0,3-1 mg/Kg). A nivel cardiovascular, produce hipotensión y bradicardia, efectos que junto con la disminución en la temperatura rectal, son transitorios y dosis dependientes (Venkatamaran y Naga Rani, 1993). Otros efectos secundarios incluyen depresión respiratoria, disminución de la motilidad gastrointestinal (especialmente en rumiantes), hiperglicemia y glucosuria (Kreeger, 2002).

En combinación con ketamina, la medetomidina ha sido utilizada para la inmovilización de un amplio número de especies silvestres (Jalanka y Roeken, 1990; Greth *et al.*, 1993; McKenzie, 1993; Kreeger, 2002; Arnemo *et al.*, 2005; Venegas, 2006).

Atipamezol

La existencia de antagonistas específicos constituye una gran ventaja de los agonistas α -2 adrenérgicos, al hacer posible revertir sus efectos rápidamente. Los antagonistas α -2 disponibles son atipamezol, yohimbina y tolazolina. De éstos, el atipamezol es el único que puede ser usado para revertir los efectos de la medetomidina (Kreeger, 2002), debido a que posee una afinidad 200 veces mayor por los receptores α -2 que los otros antagonistas disponibles (Botana *et al.*, 2002). De este modo, el atipamezol es capaz de antagonizar efectivamente los efectos cardiovasculares, neuroquímicos y conductuales de la medetomidina. Dado que estos compuestos no tienen la capacidad de revertir los efectos de otros grupos de fármacos, al ser revertidos los efectos de la medetomidina, los animales quedan expuestos al efecto de las otras drogas usadas en el protocolo. Para evitar esto, por ejemplo al utilizarla asociada a ketamina, se debe tener la precaución de no administrar el antagonista hasta 30 minutos después de la administración de ésta, dando tiempo a cierta metabolización del fármaco que permita al animal incorporarse correctamente (Kreeger, 2002). La dosis recomendada de atipamezol en rumiantes, es de 4 a 5 veces la cantidad (en miligramos) de medetomidina utilizada sola, en combinación con ketamina se recomienda utilizar la mitad de esta dosis para evitar su efecto residual. A mayor tiempo transcurrido desde la administración

de medetomidina, menor es la dosis de atipamezol requerida. La reversión de los efectos de la medetomidina se da 5 a 10 minutos después de la inyección IM y antes de 2 minutos si es administrado endovenoso. La recuperación es calmada y los animales generalmente son capaces de ponerse de pie en el primer intento (McKenzie, 1993).

Ketamina

Las ciclohexaminas inducen un estado de “inmovilidad cataléptica”, conocida como anestesia disociativa, la cual se caracteriza por analgesia marcada, presencia de temores y movimientos espontáneos (lengua serpentina por ejemplo), midriasis con ojos abiertos y retención de reflejos como el laríngeo, palpebral y corneal (McKenzie, 1993; Botana *et al.*, 2002). Las ciclohexaminas disponibles para uso veterinario son fenciclidina, ketamina y tiletamina, todas ellas ampliamente usadas en varias especies de mamíferos, aves y reptiles, generalmente en combinación con agentes sedativos para disminuir sus efectos catalépticos y pro-convulsivantes (McKenzie, 1993; Kreeger, 2002).

La ketamina es probablemente la droga más utilizada para la inmovilización de animales silvestres, desde reptiles a grandes ungulados, dada su eficacia y alto índice terapéutico (Kreeger, 2002). Dentro de sus ventajas se encuentra su efecto estimulante cardiovascular, el que se explica mediante el aumento del gasto cardíaco, presión venosa central y frecuencia cardíaca. Además, no deprime el sistema respiratorio y proporciona buena analgesia periférica (Botana *et al.*, 2002). Al ser administrada parenteralmente se logra la inmovilización en 5 a 10 minutos dependiendo de la especie y dosis utilizada, sin embargo su inyección IM es dolorosa debido al bajo pH de la solución (McKenzie, 1993).

La dosis recomendada de ketamina varía de 2 a 50 mg/Kg, siendo menor al ser utilizada en combinación con otras drogas (McKenzie, 1993). Jalanka y Roeken (1990) utilizaron una dosis de 2 mg/Kg en combinación con medetomidina (0,1 mg/Kg), logrando la correcta inmovilización de guanacos en cautiverio. Esta dosis fue ratificada por Venegas (2006) para guanacos silvestres de vida libre.

Monitoreo anestésico

Si bien el propósito de la anestesia es proveer inconciencia, amnesia, analgesia e inmovilidad con un mínimo riesgo para el animal, las drogas anestésicas y sus adyuvantes pueden comprometer la homeostasis del individuo. En general, los efectos adversos incluyen

hipotensión, bradicardia, arritmias, depresión del miocardio, vasodilatación o vasoconstricción, hipoventilación, hipoxemia, entre otros. Es por esto que durante un procedimiento anestésico deben ser evaluadas en forma periódica variables básicas como: frecuencia respiratoria, cardíaca, pulso, tiempo de llene capilar, temperatura rectal y otros como medición de gases arteriales, presión, oximetría de pulso, electrocardiograma, que requieren equipamiento especializado (Thurmon *et al.*, 1999). Dentro de las variables más utilizados para el monitoreo en condiciones de campo se encuentran la medición de frecuencia respiratoria y cardíaca, pulso y temperatura rectal (McKenzie, 1993; Kreeger, 2002).

Si bien la frecuencia respiratoria no es buen parámetro para medir la profundidad anestésica, debido a su amplio rango de normalidad, un cambio en el ritmo, profundidad, esfuerzo inspiratorio o espiratorio puede ser indicativo de un cambio fisiológico. Es importante considerar la influencia de las drogas utilizadas, por ejemplo, la ketamina puede producir respiración apnéustica en carnívoros y otros animales sanos (Thurmon *et al.*, 1999), mientras que los opioides tienden a producir depresión respiratoria, aunque los herbívoros en general son más resistentes a este efecto (McKenzie, 1993). En los camélidos sudamericanos la frecuencia respiratoria está fuertemente influenciada por las condiciones ambientales, encontrando rangos normales desde 27 a 80 ciclos por minuto (cpm) (Bustos, 1998).

La frecuencia cardíaca está influenciada por estímulos nerviosos y endocrinos, pudiendo aumentar durante el ejercicio, estímulos dolorosos, hipoxia y fiebre entre otros y disminuye en la espiración y decaimiento (Ganong, 2000). También se ve afectada por el uso de drogas, produciendo la gran mayoría de ellas una disminución del ritmo cardíaco y de la presión sanguínea, excepto la ketamina que tiene un efecto estimulante (Kreeger, 2002). Para guanacos adultos Zapata *et al.* (2004) describen niveles basales de 60,7 latidos por minuto (lpm).

En cuanto a la temperatura corporal, en herbívoros puede tender a aumentar debido al incremento en la actividad muscular o incluso, sólo por el estrés producido por la captura misma. Una vez inmovilizado el animal, su capacidad de termorregulación se hace prácticamente nula, dependiendo en gran medida de las condiciones ambientales (McKenzie, 1993). Los camélidos son particularmente eficientes en relación a la termorregulación, siendo la cobertura de pelo y lana altamente aislante. En la zona ventral el pelo se encuentra en menor densidad, lo cual provee una “ventana termal” que permite la disipación del calor, ayudando a

la regulación de la temperatura mediante su mayor o menor exposición. Bustos (1998) describe para guanacos adultos temperaturas de $38,1 \pm 0,4$ °C.

Variables Anestesiológicas

Corresponden a determinadas dosis y tiempos que describen el efecto, sedante, analgésico y anestésico general de un fármaco o de una asociación de fármacos (Bastías *et al.*, 2004). La dosis de inducción total o por kilogramo de peso, los tiempos de anestesia o de recuperación, varían no solo con las asociaciones de anestésicos, sino también entre los individuos a los cuales se aplica un mismo protocolo. En la anestesiología clínica es importante determinar estas variables porque sus valores además de describir objetivamente su acción, tienen aplicación práctica. En ensayos de campo con animales silvestres, aun cuando no son cuantificables las mismas variables descritas en pabellón, la descripción de valores adaptados a las condiciones de captura y manejo, permite analizar y describir efectos de importancia teórica y aplicación práctica (McKenzie, 1993; Bastías *et al.*, 2004).

Variaciones hematológicas

Contar con una cuantificación confiable del estrés es de particular importancia en la evaluación de métodos de captura y manejo en animales silvestres, con el fin de minimizar la mortalidad que puede producirse en estos procedimientos. Si bien es altamente recomendable que esta medición se haga sobre la base de un número de variables fisiológicas, hematológicas y bioquímicas, esto es a veces impracticable en condiciones de campo (Morton *et al.*, 1995).

La concentración sanguínea de cortisol es ampliamente aceptada como indicador de estrés (Broom y Johnson, 1993; Morton *et al.*, 1995; Beerda *et al.*, 1996; Morrow *et al.*, 2002; Möstl y Palme, 2002). Concentraciones sanguíneas aumentadas de cortisol conllevan ciertos cambios hematológicos y fisiológicos, por ejemplo: aumento del recuento de eritrocitos y leucocitos, cambio en la relación neutrófilos:linfocitos (N:L), aumentos en la glicemia, etc. (Ganong, 2000).

Morton *et al.* (1995) analizaron la respuesta a la captura de animales silvestres mediante la medición de cortisol plasmático. Los animales inmovilizados por medios químicos presentaron menores concentraciones en relación a aquellos restringidos físicamente, concluyendo los autores que la concentración sanguínea de cortisol tiende a aumentar como parte de la respuesta a la captura, siendo esta respuesta mucho más marcada en animales que

murieron durante el procedimiento. En cuanto a camélidos sudamericanos, Bonacic y Macdonald (2003) describen un aumento de cortisol, relación N:L, glicemia y volumen globular aglomerado (VGA) 4-6 horas después de la captura y transporte de vicuñas (*Vicugna vicugna*) silvestres.

OBJETIVOS

Objetivo general

Reportar la respuesta anestesiológica, fisiológica y hematológica de guanacos silvestres capturados mediante inmovilización química.

Objetivos específicos

Reportar los efectos anestesiológicos de la asociación medetomidina/ketamina en guanacos silvestres.

Describir las variaciones de la frecuencia respiratoria, frecuencia cardíaca y temperatura rectal de guanacos capturados mediante el uso de dardos cargados con la combinación de drogas utilizada.

Determinar la influencia de este tipo de captura en parámetros hematológicos indicadores de estrés usados comúnmente en guanacos, como relación neutrófilos:linfocitos (N:L) y concentración sérica de cortisol.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El estudio se llevó a cabo durante el mes de enero 2005, correspondiente a época estival y temporada de parición y monta, en el sector Portería Sarmiento, 155 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m.), dentro del Parque Nacional Torres del Paine (Región de Magallanes), donde se encuentra una población establecida de guanacos de vida libre habituados a la presencia humana debido a la actividad turística de la zona. A causa de un incendio ocurrido un año antes de la realización de esta investigación, la vegetación de la zona se limita a gramíneas y escasos matorrales.

Animales

Se capturaron 10 ejemplares adultos: 2 machos, 2 hembras y 6 hembras con cría. Previo a la captura se observó al animal por un período no menor a 1 hora para determinar su estado de salud aparente (condición corporal, presencia de cojeras, actitud frente al medio) y su situación en el grupo (macho o hembra, juvenil o adulto, presencia de cría).

Protocolo de captura

La captura se realizó mediante la inyección de droga a distancia, utilizando un rifle de CO₂ comprimido (Telinject®, modelo G.U.T. 50) con un cañón de 11 mm de diámetro y dardos plásticos de 3 mL. El disparo se realizó a una distancia de 5 a 25 metros del animal, dirigiendo el dardo a la musculatura de las extremidades posteriores.

Las dosis de anestésicos utilizadas fueron las reportadas por Jalanka y Roeken (1990) para guanacos en cautiverio:

Clorhidrato de Medetomidina (Zalopine® 10 mg/mL, frascos de 5 mL, Orion Pharma, Finlandia): 0.1 mg/Kg.

Clorhidrato de Ketamina (Imalgene® 10%, frascos de 10 mL, Merial): 2 mg/Kg.

Ambos fármacos se cargaron en un dardo plástico de 3 mL, calculando el volumen total a administrar según el peso de guanacos reportado en la literatura (Cunazza, 1991; González *et al.*, 2006). Para pesos estimados ver Anexo 1.

Clorhidrato de Atipamezole (Antisedan® 5 mg/mL, frasco de 10 mL, Orion Pharma, Finlandia) utilizado para revertir los efectos de la medetomidina, en relación 2:1 (mg), es decir 2 mg de clorhidrato de atipamezole por cada miligramo de medetomidina, utilizado por vía intramuscular, 45 minutos después de haber sido inmovilizado el animal.

Toma de muestras

Se tomaron muestras de sangre desde la vena yugular 30 minutos después de la inyección del dardo, en tubos al vacío de 3 mL (Venoject®), uno sin anticoagulante para la obtención de suero y otro con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) para la obtención de células sanguíneas.

Datos registrados

Descripción del procedimiento de captura

Número de disparos: Dardos requeridos para lograr la inmovilización. Esto se aplica en aquellos casos en los que el primer dardo rebota o no inyecta las drogas completamente.

Variables anestesiológicas

Tiempo de sedación (TS): Tiempo (en minutos) desde el disparo efectivo del dardo hasta aparición de los primeros signos de sedación considerados: tambaleo y cabeza gacha.

Tiempo de inducción (TI): Tiempo (en minutos) desde el disparo efectivo del dardo hasta que el animal se tiende en decúbito esternal con la cabeza abajo.

Período de latencia del efecto del antagonista (TLA): Tiempo (en minutos) desde la inyección del antagonista hasta que el animal presenta los primeros signos de recuperación (reacciona y levanta la cabeza).

Período de recuperación (TR): Tiempo (en minutos) desde la inyección del antagonista hasta la completa incorporación del animal.

Estimación del peso corporal

Al no tener la posibilidad de pesar directamente a los animales, se registró el perímetro torácico con el fin de obtener una estimación más cercana al peso vivo del animal inmovilizado, para poder calcular con mayor exactitud las dosis por kilogramo de peso utilizadas (Ver Anexo 1). Esto se llevó a cabo mediante el uso de una fórmula matemática adaptada por Latorre y Bastres (2004):

$$\text{Peso (kg.)} = 5,69 \times 10^{-5} \times [\text{Perímetro torácico (cm)}]^{3,04}$$

Variables fisiológicas

Para registrar el impacto de la inmovilización sobre variables fisiológicas, se registró desde el inicio de manipulación a los 10 y 20 minutos:

Frecuencia cardiaca (latidos por minuto, Lpm): con el uso de un fonendoscopio.

Frecuencia respiratoria (ciclos por minuto, Cpm): por observación directa de los movimientos costoabdominales.

Temperatura rectal (grados Celsius): mediante el uso de un termómetro digital.

Variables hematológicas

Para evaluar el estrés producido por este procedimiento, se evaluaron dos indicadores comúnmente usados en guanacos en cautiverio:

Relación neutrófilos:linfocitos: según recuento diferencial de leucocitos (%).

Cortisol sérico: medido en nmol/L.

Análisis de las muestras

El mismo día en que fue tomada la muestra, se separó el suero y se congeló a -18°C en tubos Eppendorf de 1 mL. También se realizaron frotis sanguíneos en portaobjetos, fijados con metanol.

En el Laboratorio de Hematología y Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, se realizó el procesamiento de los frotis sanguíneos, el que consistió en su tinción con Giemsa, para luego llevar a cabo el recuento

diferencial de leucocitos en microscopio óptico a 40x, según lo establecido por Schalm *et al.* (1975).

En el Laboratorio de Hormonas, Facultad de Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad Católica de Chile se realizó el análisis de las muestras de suero para medir concentración de cortisol mediante radioinmunoanálisis (RIA).

Análisis estadístico

Los datos asociados a la técnica de captura (tiempos), variables fisiológicas y hematológicas se entregan mediante promedio y desviación estándar. Los datos referentes a leucocitos, por ser porcentuales, fueron corregidos a la raíz cuadrada del arcoseno para su análisis. Además, se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson con la finalidad de relacionar las variables fisiológicas y hematológicas entre sí y con variables descriptoras de la técnica de captura.

RESULTADOS

Procedimiento de captura

La distancia de disparo no superó los 10 metros en ninguno de los casos. En 8 de los 10 animales se requirió el disparo de un solo dardo anestésico. En los otros dos animales se utilizaron 2 dardos, en un caso debido a que el primer dardo rebotó sin inyectar y en el otro caso por la inyección parcial de la droga, estando asociados estos disparos fallidos a condiciones climáticas, principalmente el viento. De este modo los dardos utilizados fueron $1,2 \pm 0,42$.

Variables anestesiológicas

En 8 de los 10 animales inmovilizados se logró una completa inmovilización con la dosis anestésica incluida en el dardo. En los 2 restantes también se logró inmovilización pero con respuesta a la manipulación y de menor duración, debido a que la inyección del anestésico desde el dardo una vez disparado fue incompleta. Esos animales recibieron una dosis extra de 0,4 mL de ketamina (0,45 mg/Kg) por vía intramuscular (IM) para permitir un manejo adecuado. Las dosis de drogas utilizadas se presentan en la Tabla 1

Tabla 1: Dosis anestésicas utilizadas

	Media (mg/Kg)	D.E.	Mín.	Máx.
Medetomidina	0,10	0,01	0,08	0,12
Ketamina	2,04	0,22	1,60	2,31
Atipamezole	0,12	0,04	0,08	0,22

D.E.: Desviación estándar

Desde la inyección efectiva del dardo, los animales demoraron un promedio de $6,3 \pm 6,55$ minutos en mostrar los primeros signos, como tambaleo y cabeza gacha, considerados indicadores del TS. A los $8,7 \pm 8,07$ minutos de realizada la inyección efectiva del dardo, los

animales adoptaron la posición decúbito esternal con baja respuesta al medio, determinado como TI.

Luego de la inyección del antagonista, atipamezole, los animales demoraron $4,9 \pm 3,78$ minutos en mostrar los primeros signos de recuperación, como levantar la cabeza correspondiente al TLA y $8,2 \pm 5,31$ minutos en adoptar la posición normal de pie, correspondiente al TR (Tabla 2). Para resultados individuales ver Anexo 2.

Tabla 2: Tiempos de acción correspondientes a variables anestesiológicas.

	Media (min.)	D.E.	Mín.	Máx
TS	6,30	6,55	2,00	24,00
TI	8,70	8,07	3,00	31,00
TLA	4,90	3,78	0,00	10,00
TR	8,20	5,31	0,00	15,00

D.E.: Desviación estándar

Variables fisiológicas

Frecuencia cardíaca, respiratoria y temperatura rectal fueron medidas a los 10 y 20 minutos desde el inicio de la manipulación. Si bien se distingue una disminución entre la primera y segunda medición en todas las variables medidas, no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) en ninguno de los casos (Tabla 3). Para resultados individuales ver Anexo 3.

Tabla 3: Variables fisiológicas registradas bajo el efecto de asociación medetomidina/ketamina.

	Media	D.E.	Mín.	Máx.
Frec. Cardíaca 1	37,20	8,01	28,00	52,00
Frec. Cardíaca 2	37,00	10,38	24,00	56,00
Frec. Respiratoria 1	31,60	3,50	28,00	36,00
Frec. Respiratoria 2	27,30	7,86	16,00	44,00
T° Rectal 1	38,16	0,45	37,80	39,30
T° Rectal 2	37,63	0,91	35,50	38,30

1: Valores medidos a los 10 minutos

2: Valores medidos a los 20 minutos

Variables hematológicas

Recuento diferencial de leucocitos

No se evidenciaron alteraciones morfológicas de los leucocitos en ninguno de los frotis evaluados (Tabla 4). Para resultados individuales ver Anexo 4. Todos los datos presentados fueron corregidos al cuadrado del arco seno.

Tabla 4: Recuento diferencial de leucocitos registradas bajo el efecto de asociación medetomidina/ketamina.

	Media	D.E.	Mín.	Máx.
Baciliformes	3,18	2,42	0,00	7,00
Segmentados	27,63	16,57	9,50	67,50
Linfocitos	68,15	17,32	27,00	88,50
Monocitos	0,45	0,69	0,00	2,00
Eosinófilos	0,48	0,41	0,00	1,00
Basófilos	0,10	0,32	0,00	1,00
Relación N:L	0,61	0,73	0,12	2,59

D.E.: Desviación estándar

Relación N:L: Relación neutrófilos:linfocitos

Cortisol sérico

La medición de cortisol sérico obtenida fue de $88,22 \pm 27,68$ nmol/L, con un rango de 50,10 a 141,80 nmol/L.

Correlaciones entre variables

Con el fin de asociar las variables fisiológicas y hematológicas se realizaron correlaciones simples. También se incluyó en el análisis el número de dardos utilizado para evaluar su influencia en las variables medidas. En general los coeficientes son bajos, salvo en ciertos casos donde las correlaciones son altas y significativas, como se muestra en la Tabla 5.

Los coeficientes de correlación referentes al número de dardos disparados son en general bajos y no significativos. Se encontró una correlación positiva y significativa entre la

relación N:L y la concentración sérica de cortisol. También se encontró una alta y significativa correlación positiva entre ambos registros de frecuencia cardíaca.

Tabla 5: Coeficientes de correlación de Pearson.

	Nºdardos	Cortisol	N:L	FC 1	FC 2	FR 1	FR 2	TR 1	TR 2
Nºdardos	1	0.35	-0.19	-0.34	0.05	0.36	-0.09	-0.42	0.13
Cortisol		1	0.67*	0.09	0.13	0.23	-0.21	0.51	-0.51
N:L			1	0.04	0.02	0.0003	-0.46	0.89**	-0.74*
FC 1				1	0.88**	-0.42	0.11	0.05	0.24
FC 2					1	-0.4	-0.0004	-0.07	0.14
FR 1						1	-0.35	0.13	0.24
FR 2							1	-0.37	0.19
TR 1								1	-0.57
TR 2									1

* p<0.05
 ** p<0.01

N:L: relación neutrófilos:linfocitos
 FC: frecuencia cardíaca
 FR: frecuencia respiratoria
 TR: temperatura rectal

Los coeficientes de correlación de las dosis reales de droga utilizadas son bajos y no significativos. De este modo, no se aprecia una correlación entre la dosis de medetomidina con ketamina y el tiempo de sedación ($r=-0,4$, $p>0,05$; $r=0,03$, $p>0,05$, respectivamente) e inducción ($r=-0,29$, $p>0,05$; $r=0,15$, $p>0,05$, respectivamente) ni entre la dosis de atipamezol y el tiempo de efecto del antagonista ($r=0,38$, $p>0,05$) y tiempo de recuperación ($r=0,03$, $p>0,05$). La concentración sérica de cortisol tampoco mostró correlacionarse con la dosis de medetomidina ($r=-0,17$, $p=0,8$) y ketamina ($r=0,18$, $p=0,6$) utilizadas.

DISCUSIÓN

Procedimiento de captura

La distancia de disparo no superó los 10 metros en ninguno de los casos, estando asociados los disparos fallidos a condiciones climáticas, principalmente el viento. El mayor número de dardos utilizados en los dos casos no mostró correlación con ninguna de las variables registradas. Venegas (2006) describe una asociación positiva y significativa entre el número de dardos utilizados y la concentración sérica de cortisol, con un tamaño muestral de 12 individuos. Si bien es esperable que un mayor número de disparos desencadenen la respuesta estrés, son necesarios mayores tamaños muestrales para establecer asociaciones con mayor claridad.

Variables anestesiológicas

Las dosis por kilogramo de peso de drogas utilizadas al igual que el período de acción de las drogas, concuerdan con lo descrito en la literatura para esta combinación (Jalanka y Roeken, 1990; McKenzie, 1993) y con lo reportado por Venegas (2006) para guanacos silvestres. Es posible establecer que los resultados en cuanto a tiempos de acción son altamente predecibles, siempre que se utilice esta combinación de drogas en las dosis reportadas (Jalanka y Roeken, 1990; McKenzie, 1993). De este modo las posibles variaciones estarían dadas por sobre o sub-dosificación, probablemente asociado a errores en la estimación del peso de los animales o por inyección incompleta de la droga desde el dardo.

Al trabajar en condiciones de campo con animales en riesgo de depredación, en este caso debido a la presencia de pumas en la zona donde se realizó el estudio (Franklin *et al.*, 1999), resulta de vital importancia contar con drogas que permitan una rápida recuperación (McKenzie, 1993; Kreeger, 2002). En este sentido cabe destacar el corto período de recuperación logrado gracias al uso de atipamezol. Carroll *et al.* (2005) evaluaron el uso de medetomidina en caprinos, donde el tiempo de recuperación después de la administración endovenosa de atipamezol fue cercano a 1 minuto, mientras que animales que no recibieron el

antagonista seguían en decúbito después de 2 horas. Greth *et al.* (1993) describen la inmovilización de oryx de Arabia (*Oryx leucoryx*) utilizando medetomidina y atipamezol en relación 3:1 por vía endovenosa, después de lo cual los animales demoraron menos de 3 minutos en ponerse de pie. Este período extremadamente reducido puede resultar peligroso para el personal relacionado con la manipulación directa del animal, pues implica respuestas prácticamente inmediatas e impredecibles. La inyección intramuscular permite tener un margen de tiempo adecuado para alejarse del animal. Resultados similares reportan Karesh *et al.* (1998) al utilizar carfentanil, que también cuenta con un antagonista (naltrexone). Estos ejemplos contrastan con los resultados obtenidos por Sarno *et al.* (1996) y Karesh *et al.* (1998) al utilizar la combinación tiletamina/zolazepam, donde los animales demoraron varias horas en lograr caminar con coordinación normal.

Si bien la recomendación teórica es utilizar el atipamezol en proporción 5:1 en relación a la dosis administrada de medetomidina (McKenzie, 1993; Kreeger, 2002), es necesario tener en cuenta la existencia de varios factores que determinan una disminución en esta proporción. En primer lugar, que el atipamezol sólo revierte los efectos de la medetomidina, por lo tanto al utilizarla en combinación con otras drogas se debe tener la precaución de esperar un tiempo determinado antes de administrarlo, ya que el animal quedaría bajo el efecto residual de éstas. También se debe considerar el tiempo durante el cual el animal ha permanecido inmovilizado, puesto que cierta proporción de la droga ya habría sido metabolizada o eliminada (McKenzie, 1993). En este sentido la dosis de atipamezol utilizada en el presente estudio, administrada 45 minutos después de la inyección de medetomidina/ketamina, a pesar de ser un cuarto de la dosis recomendada, permite la recuperación completa de los individuos en un período menor a los 10 minutos, sin presentar signos de efecto residual de ketamina.

Variables fisiológicas

Previo al análisis, es necesario recordar que en el caso de animales silvestres, los rangos descritos para las variables fisiológicas son amplios y varían en distintas condiciones (cautividad, manejo, latitud, etc.), siendo muy difícil establecer rangos estandar. (McKenzie, 1993; Kreeger, 2002).

Frecuencia cardiaca

Para el caso de la frecuencia cardiaca las mediciones obtenidas ($37,02 \pm 8,01$ Lpm) son notablemente menores a las descritas para animales en reposo, de 60 (Zapata *et al.*, 2004) a 85 Lpm (Bustos, 1998). Si bien en reposo hay un mayor tono vagal y, por lo tanto, menor frecuencia cardiaca (Ganong, 2000), esta marcada disminución se debería principalmente al conocido efecto bradicardizante de los agonistas α -2 adrenérgicos, en especial la medetomidina (McKenzie, 1993; Venkatamaran y Naga Rani, 1993; Kreeger, 2002). Esto lo confirma Greth *et al.* (1993), que también describen en oryx de Arabia menor frecuencia cardiaca, que además fue disminuyendo significativamente en el transcurso de la inmovilización. Venegas (2006) describe frecuencias cardiacas muy similares a las registradas en el presente estudio, las que también mostraron tendencia a disminuir en el transcurso de la inmovilización.

Frecuencia respiratoria

Las mediciones obtenidas en el presente estudio están dentro del rango de normalidad descrito por Bustos (27 a 80 Cpm; 1998), con una tendencia no significativa a disminuir, de modo que la segunda medición se encuentra en el límite inferior. Esto concuerda con lo descrito por Venegas (2006).

Greth *et al.* (1993) describen una disminución de la frecuencia respiratoria, aunque no significativa. Arnemo *et al.* (2005) describen en ciervo porcino (*Axis porcinus*) una tendencia a disminuir entre ambas mediciones (10 y 20 min post-dardeo), aún cuando estos animales estuvieron sometidos a ejercicio previo a la inmovilización.

Temperatura rectal

Es preciso recordar que la medetomidina, como todos los agonistas α -2 adrenérgicos, induce disminución de la temperatura corporal, que al igual que todos sus efectos secundarios, es transitoria, dosis dependiente y se revierte con el uso de atipamezol (Venkatamaran y Naga Rani, 1993).

Sin embargo, la temperatura rectal registrada no sufrió la disminución esperada, encontrándose dentro del rango descrito por Fowler (1989) para camélidos adultos ($37,5$ a $38,6^\circ\text{C}$); aunque para la segunda medición es levemente menor al registrado por Bustos (1998) para guanacos adultos ($38,1 \pm 0,4$ $^\circ\text{C}$), sin embargo esta medición está sobre estimada puesto que los animales fueron inmovilizados físicamente. Venegas (2006) registró temperaturas

rectales menores a los 38°C, con la misma tendencia a disminuir en el transcurso de la inmovilización. Greth *et al.* (1993) también describe una disminución significativa en el transcurso de la inmovilización.

Variables hematológicas

Recuento diferencial de leucocitos

Los valores obtenidos en el caso de monocitos, eosinófilos y basófilos son levemente menores a los descritos por Schalm *et al.* (1975), Jain (1993) y Zapata *et al.* (2003), aunque igualmente representan un bajo porcentaje del total de leucocitos.

Schalm *et al.* (1975) menciona rangos basales de 16 – 30% de linfocitos y 57 – 76% de neutrófilos. Esto concuerda con los valores reportados por Jain (1993) y por Zapata *et al.* (2003) para guanacos adultos. Para el caso de otros camélidos sudamericanos como la llama, alpaca y vicuña, Fowler (1998) entrega datos similares a los relatados anteriormente, con rangos de linfocitos entre 27 y 33%, y de neutrófilos de 46 a 59%.

En el presente estudio, el porcentaje de linfocitos ($68,15 \pm 17,32\%$) se encuentra notoriamente sobre los rangos mencionados anteriormente, mientras que para el caso de los neutrófilos el $27,63 \pm 16,57\%$ obtenido es ampliamente inferior. Sólo uno de los animales inmovilizados presentó una proporción de leucocitos dentro del rango descrito por Schalm *et al.* (1975), con 67.5% de neutrófilos segmentados y 27% de linfocitos.

Es necesario precisar que en el presente estudio no se realizó el recuento total de leucocitos, por lo que los datos entregados se limitan a entregar la proporción de éstos presentes en los frotis sanguíneos. Por lo tanto, en este caso no es posible hablar de linfocitosis ni de neutropenia, pues no se conocen las concentraciones reales de ambos tipos celulares. Sin embargo es posible especular sobre posibles escenarios respecto al recuento de leucocitos: que se encontrara dentro de los rangos esperados, donde efectivamente habría linfocitosis y neutropenia; disminuido, donde los linfocitos podrían encontrarse dentro del rango, pero con franca escasez de neutrófilos y finalmente, aumentado, con neutrófilos dentro del rango pero con gran exceso de linfocitos.

Las alteraciones en el recuento de leucocitos en el caso de los camélidos, generalmente están asociadas a reacciones por estrés, respuestas inflamatorias y cuadros infecciosos, donde

lo más común es encontrar leucocitosis con neutrofilia y linfopenia (Schalm *et al.*, 1975; Fowler, 1998; Feldman *et al.*, 2000). Los estados de linfocitosis en camélidos son poco comunes, y generalmente se asocian a cuadros inflamatorios crónicos como infecciones dentales o abscesos. En el caso de la neutropenia, comúnmente se encuentra en estados de sepsis aguda o síndromes mielodisplásicos (Cebra, 2006). Feldman *et al.* (2000) asocian estados de neutropenia a casos de infecciones severas, donde la migración de los neutrófilos hacia los tejidos excede su producción y liberación medular, encontrándose en circulación formas inmaduras o tóxicas, lo que no se aplica en este caso, ya que no se encontraron alteraciones morfológicas de los leucocitos en los frotis. Debido a que en este caso el 90% de los animales examinados presentaron anomalías en el recuento de neutrófilos y linfocitos, las causas probables a revisar incluyen mayoritariamente a aquéllas capaces de afectar simultáneamente a un gran número de animales.

En primer lugar están las enfermedades infecciosas, aunque como ya se mencionó la mayoría producen neutrofilia y linfopenia. Uno de los agentes que podría producir una reacción como la encontrada en este caso es la infección con el virus de la Leucosis Bovina, que en el 30 – 70% de los bovinos infectados provoca una respuesta linfoproliferativa benigna, que tiene como resultado una linfocitosis persistente (Schalm *et al.*, 1975; Jain, 1993; Feldman *et al.*, 2000). La infección con este virus no ha sido diagnosticada en camélidos sudamericanos hasta el momento (Cebra *et al.*, 1995; Puntel *et al.*, 1999; Sartin *et al.*, 2004).

El conocimiento sobre agentes infecciosos que afecten a camélidos sudamericanos es más bien limitado, especialmente en el caso de las especies silvestres. Estudios realizados en Chile se han limitado a realizar pruebas serológicas en busca de agentes transmisibles al ganado doméstico, principalmente en la zona norte y centro del país, donde las explotaciones comerciales de camélidos son más abundantes. (pestivirus: Arce, 2001; Droguett, 2001; herpes virus equino tipo 1: Vergara, 2004; Escobar, 2007). En la Patagonia argentina Karesh *et al.* (1998) evaluaron la salud de ovinos y guanacos silvestres, resultando negativas todas las pruebas serológicas realizadas en guanacos (virus lengua azul, diarrea viral bovina, rinotraqueítis infecciosa bovina, virus respiratorio sincicial bovino, virus herpes equino-1, fiebre aftosa, virus parainfluenza-3, estomatitis vesicular, brucelosis, paratuberculosis y leptospirosis – 17 serovars).

La influencia de factores ambientales también debe tenerse en cuenta. Debido a un incendio de grandes proporciones en el P. N. Torres del Paine un año previo a la realización de

este estudio que afectó gran parte de la zona ocupada por el guanaco, la composición vegetal pasó de ser mayormente arbustiva y espinosa a planicies cubiertas por gramíneas de bajo crecimiento, cambiando notoriamente la oferta de forraje. Sin embargo, el guanaco mostraba predilección marcada por estas planicies abiertas en comparación con zonas adyacentes que mantenían la cubierta vegetal anterior. No se puede dejar de recordar el efecto físico y visual que ejercen las especies arbustivas, que provee escondites a importantes depredadores como el puma, lo que implicaría que en un ambiente abierto y con mayor visibilidad, el riesgo de depredación disminuya (González, datos no publicados). De este modo, podría explicarse la permanencia de los animales en estas zonas aparentemente escasas en recursos forrajeros. Estudios demuestran que diferentes planos de nutrición afectan la función de los linfocitos y la proporción de sus subpoblaciones más que su recuento total, el cual de verse afectado, disminuye en casos de malnutrición (Nonnecke *et al.*, 2003; Ohtsuka *et al.*, 2005). Para realizar una aproximación más certera, se requiere un análisis de la composición nutricional de las especies vegetales que componen esta nueva dieta del guanaco.

Este cambio radical en el ambiente además se podría considerar como una causa de estrés crónico en la población. Estudios sobre su impacto a nivel de leucocitos son escasos en animales, llevándose a cabo mayormente en ratas (Broom y Johnson, 1993). En éstas se describe que el estrés crónico (días a semanas) induce inmunodepresión, con la disminución de la respuesta celular por disminución de linfocitos (especialmente linfocitos T; McKinnon *et al.*, 1989; Dhabhar y McEwen, 1997; Domínguez-Guerpe y Rey-Méndez, 2001; Dhabhar, 2003). Sin embargo, no es posible extrapolar estos resultados obtenidos en ratas en condiciones de laboratorio a poblaciones de camélidos silvestres sometidas a estrés prolongado (meses). Sin duda, es necesaria mayor investigación al respecto, tanto en animales domésticos como silvestres.

Relación neutrófilos:linfocitos (N:L)

La mencionada proporción de linfocitos y neutrófilos se refleja en una notoria disminución de la relación N:L. El resultado obtenido ($0,61 \pm 0,73$) es francamente menor a todos los reportados anteriormente. Zapata *et al.* (2003) reportan en guanacos juveniles un valor basal de $2,0 \pm 0,99$ para hembras y $3,6 \pm 2,81$ para machos en época estival. Venegas (2006) encontró una relación N:L de $1,68 \pm 1,45$ durante la inmovilización química.

A pesar de esto, la relación N:L muestra una correlación positiva y significativa ($P=0,67$, $p < 0,05$) con el cortisol sérico. Bonacic *et al.* (2003) también describen en vicuñas una alta correlación entre el aumento de cortisol y el incremento en la relación N:L, como es esperable dado que es ampliamente reconocido que el cambio en la proporción de leucocitos está mediado por un aumento del cortisol (Schalm *et al.*, 1975; Broom y Johnson, 1993; Jain, 1993; Feldman *et al.*, 2000; Ganong, 2000; Möstl y Palme, 2002). Sin embargo, en este caso la relación N:L aumentó (como es esperable en una reacción estrés), al contrario de los resultados aquí presentados, donde ésta se encuentra disminuida. En este caso, el animal que presentó una distribución de leucocitos dentro de los rangos descritos es el que registra la mayor concentración sanguínea de cortisol (141,8 nmol/L), aunque no es posible distinguir ninguna tendencia en el resto de los animales (ver Anexo). Mayor investigación respecto a las causas de la relación N:L encontrada sin duda ayudarán a despejar estas dudas.

Cortisol sérico

La concentración sérica de cortisol encontrado, de $88,22 \pm 27,68$ nmol/L, es ampliamente superior a la basal reportada para guanacos adultos, de 16,3 a 21,7 nmol/L (Le Roy, 1999; Zapata *et al.*, 2004, respectivamente).

En el caso de aumento de cortisol asociado a manejos potencialmente estresantes, Zapata *et al.* (2002) describen un aumento significativo en relación a la concentración basal, con un peak de 51,1 nmol/L a las 4 horas post-castración con anestesia local. Zapata *et al.* (2004) describen un aumento significativo después del transporte de guanacos adultos, llegando a concentraciones de $37,3 \pm 10,25$ nmol/L.

Venegas (2006) encontró concentraciones séricas de cortisol de $35,4 \pm 15$ nmol/L, a partir de una muestra obtenida <5 min después de inmovilizado el animal. Al comparar esto con los resultados obtenidos en este estudio (donde la muestra fue tomada a los 30 min.), es necesario recordar la curva de secreción de cortisol planteada por Le Roy (1999), en la cual la concentración sérica de cortisol alcanzó un plató en 92,0 nmol/L, 90 minutos después de la inyección de ACTH. Indudablemente, es esperable una menor concentración sérica en una muestra tomada más tempranamente post-estímulo. En este caso se debe considerar una mayor concentración de cortisol debido a que la medetomidina induce aumento en la concentración sérica de cortisol *per-sé*, como lo demuestra Ranheim *et al.* (2000) en bovinos y ovinos, donde éste aumentó 4 a 8 veces sobre el nivel basal 25 a 45 min post-inyección de

medetomidina Esta repuesta también fue registrada por Carroll *et al.* (2005) en caprinos, aunque en menor intensidad. Es por ésto que la concentración encontrada por Venegas (2006) es superior al nivel basal mencionado por Le Roy (1999). En el presente estudio no se encontró correlación entre la dosis de medetomidina utilizada y la concentración sérica de cortisol, aunque esta sí se correlaciona con la relación N:L, como ya se mencionó. Sin duda es necesaria mayor investigación acerca de las causas de esta alteración en las proporciones de leucocitos para establecer las reales implicancias de estos resultados.

CONCLUSIONES

La captura de guanacos silvestres mediante la inyección a distancia de dardos cargados con la combinación anestésica medetomidina/ketamina en dosis de 0,1 y 2 mg/Kg respectivamente, es altamente efectiva siempre que la inyección de la droga sea completa, siendo la inmovilización lograda mediante el uso de esta combinación altamente predecible en cuanto a tiempos de acción o respuesta anestesiológica, con períodos de inducción y recuperación calmados y progresivos. La inyección intramuscular de atipamezol en dosis de 0,12 mg/Kg, administrado a los 45 minutos de inmovilización, revierte completamente la sedación producida por la medetomidina en 8,2 minutos, siendo los animales capaces de incorporarse al grupo de inmediato.

La respuesta fisiológica asociada al uso de esta combinación incluye disminución de frecuencia respiratoria y temperatura rectal hasta el rango inferior descrito para la especie, mientras que la frecuencia cardíaca disminuye ampliamente bajo el rango, como es esperable debido al uso de un fármaco α -2 adrenérgico como la medetomidina.

Los efectos de la inmovilización química mediante el uso de dardos anestésicos sobre las proporciones de leucocitos no se relacionan con la respuesta descrita previamente para la especie. La concentración sérica de cortisol registrada se encuentra cercana al máximo registrado para la especie, siendo en algunos animales francamente superior a éste. La relación N:L se correlaciona positiva y significativamente con la concentración sérica de cortisol, como está descrito para guanacos y vicuñas en situaciones de estrés, a pesar las proporciones de leucocitos obtenidas.

Implicancias de este estudio

La alta concentración sérica de cortisol encontrada en el presente estudio, asociada a una proporción de leucocitos francamente diferente a todas las descritas para la especie, hacen necesaria mayor investigación respecto a las posibles causas de estas alteraciones y de otros factores asociados, como podría ser la presencia de enfermedades infecciosas y el efecto de la perturbación ambiental debido a un incendio ocurrido un año antes de la realización de la investigación. La determinación de la curva de cortisol asociada al uso de medetomidina

permitiría definir la magnitud del sesgo que impone el efecto de esta droga sobre la concentración sérica de cortisol en guanacos y de esta manera determinar la normalidad de la concentración reportada en este estudio. Por otro lado, la realización de estudios acerca del efecto de estrés ambiental crónico sobre animales silvestres permitiría aclarar la existencia de una relación entre el incendio ocurrido un año antes en el área de estudio con las mencionadas alteraciones en leucocitos y cortisol y sus posibles repercusiones en la viabilidad de la población.

BIBLIOGRAFÍA

ARCE, C.A. 2001. Infección por pestivirus en un rebaño de alpacas de la zona central de Chile. Memoria para optar al Título Profesional de Médico Veterinario. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile. Santiago, Chile. 42 p.

ARNEMO, J.M.; STORAAS, T.; KHADKA, C.B.; WEGGE, P. 2005. Use of medetomidine-ketamine and atipamezole for reversible immobilization of free-ranging hog deer (*Axis porcinus*) captured in drive nets. *Journal of Wildlife Diseases* 41(2): 467-470.

BALDI, R.; PELLIZA-SBRILLER, A.; ELSTON, D.; ALBON, S. 2004. High potential for competition between guanacos and sheep in Patagonia. *Journal of Wildlife Management* 68(4): 924-938.

BASTÍAS, A; CATTANEO, G.; MAUREIRA, A.; FLORES, E.; GRIMAU, D. 2004. Descripción de los efectos anestesiológicos de un protocolo a base de etomidato en perros (*Canis familiaris*). *Avances en Ciencias Veterinarias* 19(1-2): 31-39.

BEERDA, B.; SCHILDER, M.B.; JANSSEN, N.S.; MOL, J.A. 1996. The use of saliva cortisol, urinary cortisol, and catecholamine measurements for a noninvasive assessment of stress response in dogs. *Hormones and Behavior* 30: 272-279.

BONACIC, C.; MACDONALD, D.W. 2003. The physiological impact of wool-harvesting procedures in vicunas (*Vicugna vicugna*). *Animal Welfare* 12: 387-402.

BONACIC, C.; MACDONALD, D.W.; VILLOUTA, G. 2003. Adenocorticotrophin-induced stress response in captive vicunas (*Vicugna vicugna*) in the Andes of Chile. *Animal Welfare* 12: 369-385.

BOTANA, L.M.; LANDONI, M.F.; MARTÍN-JIMÉNEZ, T. 2002. *Farmacología y Terapéutica Veterinaria*. 1ª Edición, McGraw–Hill Interamericana. Madrid, España. 724 p.

BROOM, D.M.; JOHNSON, K.G. 1993. Stress and Animal Welfare. 1st Ed. Chapman & Hall. London, England. 211 p.

BUSTOS, P. 1998. Estudio de algunas variables fisiológicas del guanaco (*Lama guanicoe*) durante la lactancia artificial en cautiverio. Memoria para optar al Título de Médico Veterinario. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile. Santiago, Chile. 78 p.

CARROLL, G.L.; HARTSFIELD, S.M.; CHAMPNEY, T.H.; GELLER, S.C.; MARTINEZ, E.A.; HALEY, E.L. 2005. Effect of medetomidine and its antagonism with atipamezole on stress-related hormones, metabolites, physiologic responses, sedation, and mechanical threshold in goats. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 32: 147 – 157.

CEBRA, C.K.; GARRY, F.B.; POWERS, B.E.; JOHNSON, L.W. 1995. Lymphosarcoma in 10 New World Camelids. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 9 (6): 381–385

CEBRA, C.K. 2006. Camelid Blood Test Interpretations. In: NAVC Proceedings 2006, North American Veterinary Conference (Eds). Publisher: NAVC (www.tnavc.org). Internet Publisher: International Veterinary Information Service, Ithaca NY (www.ivis.org), Last updated: 11-Jan-2006.

CUNAZZA, C. 1991. El Guanaco. Una especie de fauna silvestre con futuro. Santiago: CONAF Gerencia Técnica. Boletín Técnico N° 47, 34 p.

DE LAMO, D.A.; GARRIDO, J.L. 1983. Inmovilización de guanacos *Lama guanicoe* Muller. Contribución 77: 1-9 p. Centro Nacional Patagónico (CENPAT). Puerto Madryn, Argentina.

DHABHAR, F.S.; McEWEN, B.S. 1997. Acute stress enhances while chronic stress suppresses cell-mediated immunity in vivo: a potential role for leukocyte trafficking. *Brain, Behavior and Immunity* 11 (4) 286 – 306.

DHABHAR, F.S. 2003. Stress, leukocyte trafficking, and the augmentation of skin immune function. *Annals of the New York Academy of Sciences* 992 (1): 205–217.

DOMÍNGUEZ-GERPE, L.; REY-MÉNDEZ, M. 2001. Alterations induced by chronic stress in lymphocyte subsets of blood and primary and secondary immune organs of mice. *BMC Immunology* 2:7.

DROGUETT, J.F. 2001. Detección en Chile de anticuerpos seroneutralizantes para pestivirus en ganado caprino y camélidos sudamericanos. Memoria para optar al Título Profesional de Médico Veterinario. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile. Santiago, Chile. 38 p.

ESCOBAR, P.B. 2007. Detección de anticuerpos neutralizantes del virus herpes equino-1 en vicuñas, llamas y alpacas del altiplano de la región de Tarapacá. Memoria para optar al Título Profesional de Médico Veterinario. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile. Santiago, Chile. 38 p.

FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. 2000. Schalm's Veterinary Hematology. Fifth Edition, Blackwell Publishing, Ames, Iowa. 1344 p.

FERNÁNDEZ-BACA, S. 1991. Avances y perspectivas del conocimiento de los camélidos Sudamericanos. Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe. Santiago de Chile. 429 p.

FLORES, E; CATTANEO, G. 2000. Técnicas anestésicas inyectables de uso actual. 1.- Premedicación y sedación. *Monografías de Medicina Veterinaria* 20(2): 34-49.

FOWLER, M.E. 1989. *Medicine and Surgery of South American Camelids: llama, alpaca, vicuña, guanaco.* 1st Ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa. 391 p.

FOWLER, M. E. 1998. *Medicine and surgery of South American Camelids: llama, alpaca, vicuña, guanaco.* 2nd Ed. Iowa a State University Press, Ames, Iowa. 549 p.

FRANKLIN, W.L., JOHNSON, W., SARNO, R.; IRIARTE, A. 1999. Ecology of the Patagonia puma *Felis concolor patagonica* in southern Chile. *Biological Conservation*, 90, 33–40.

GANONG, W. 2000. Fisiología Médica. 17^o Edición en Español. El Manual Moderno. México, D.F. 944 p.

GARAY, G.; FRANKLIN, W.L.; SARNO, R.J.; JOHNSON, W.E. 1995. Development of juvenile guanaco social behavior: first study on a wild population from the Chilean Patagonia. *Revista Chilena de Historia Natural* 68: 429-438.

GONZALEZ, B.A.; PALMA, R.E.; ZAPATA, B.; MARÍN J.C. 2006. Taxonomic and biogeographical status of guanaco *Lama guanicoe* (Artiodactyla, Camelidae). *Mammal Review* 36(2):157-178.

GRETH, A.; VASSART, M.; ANAGARIYAH, S. 1993. Evaluation of medetomidine-induced immobilization in arabian oryx (*Oryx leucoryx*): clinical, haematologic and biochemical effects. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 24(4): 445-453.

IRIARTE, A.; TALA, C.; STUTZIN, M.; TRIVELLI, M.A. 2003. Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres CITES. Primera Edición. Servicio Agrícola y Ganadero. Santiago, Chile. 112 p.

JALANKA, H.; ROEKEN, B. 1990. The use of medetomidine, medetomidine-ketamine combinations, and atipamezole in nondomestic mammals : A review. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 21(2): 259-282

JAIN, N. 1993. *Essentials of Veterinary Hematology*. Lea & Febiger. Philadelphia. 417 p.

KARESH, W.; UHART, M.; DIERENFELD, E.; BRASELTON, W.E.; TORRES, A.; HOUSE, C.; PUCHE, H.; COOK, R. 1998. Health evaluation of free-ranging guanaco (*Lama guanicoe*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 29(2): 134-141.

KREEGER, T.; ARNEMO J. M.; RAATH J. P. 2002. *Handbook of wildlife chemical immobilization*. International Edition. Wildlife Pharmaceuticals, Inc., Fort Collins, Colorado. 409 pp.

LATORRE, E.; BASTRES, C. 2004. Aspectos sanitarios, alimenticios y productivos en la captura y crianza de guanacos silvestres (*Lama guanicoe*) en la patagonia chilena. *In:* (A. Iriarte, S. Tala, B. González, B. Zapata, G. González & M. Maino, eds), Cría en Cautividad de Fauna Chilena. Servicio Agrícola y Ganadero; Parque Metropolitano, Zoológico Nacional; Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, Santiago, Chile. pp. 311-325

LE ROY, A.P. 1999. Nivel de cortisol máximo en guanacos (*Lama guanicoe*) para su utilización como indicador de estrés. Memoria para optar al Título de Ingeniero Agrónomo. Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal. Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. 63 p.

MARÍN, J.C.; ZAPATA, B.; GONZALEZ, B.A.; BONACIC, C.; WHEELER, J.C.; CASEY, C.; BRUFORD, M.; PALMA, E.; POULIN, E.; ALLIENDE, M.A.; SPOTORNO, A.E. 2007. Sistemática, taxonomía y domesticación de alpacas y llamas: nueva evidencia cromosómica y molecular. Revista Chilena de Historia Natural 80: 121-140.

MARÍN, J.C.; SPOTORNO, A.E.; GONZÁLEZ, B.A. BONACIC, C.; WHEELER, J.C.; CASEY, C.S.; BRUFORD, M.W.; PALMA, E.; POULIN, E. 2008. Mitochondrial DNA variation and systematics of the guanaco (*Lama guanicoe*, Artiodactyla: Camelidae). Journal of Mammalogy 89(2): 269-281.

McKENZIE, A. 1993. The Capture and Care Manual: Capture, Care, Accommodation and Transportation of Wild African Animals. Wildlife Decision Support Services CC and The South African Veterinary Foundation. Pretoria, South Africa. 729 p.

McKINNON, W.; WEISSE, C.S.; REYNOLDS, C.P.; BOWLES, C.A.; BAUM, A. 1989. Chronic stress, leukocyte subpopulations, and humoral response to latent viruses. Health Psychology 8 (4): 389 – 402.

MORROW, C.J.; KOLVER, E.S.; VERKERK, G.A.; MATTHEWS, L.R. 2002. Fecal glucocorticoid metabolites as a measure of adrenal activity in dairy cattle. General and Comparative Endocrinology 126: 229-241.

MORTON, D.J.; ANDERSON, E.; FOGGIN, C.M.; KOCK, M.D.; TIRAN E.P. 1995. Plasma cortisol as an indicator of stress due to capture and traslocation in wildlife species. *Veterinary Record* 136: 60-63.

MÖSTL, E.; PALME, R. 2002. Hormones as indicators of stress. *Domestic Animal Endocrinology* 23: 67-74.

NONNECKE, B.J.; FOOTE, M.R.; SMITH, J.M.; PESCH, B.A.; VAN AMBURGH M.E. 2003. Composition and functional capacity of blood mononuclear leukocyte populations from neonatal calves on standard and intensified milk replacer diets. *Journal of Dairy Science* 86: 3592 – 3604.

OHTSUKA, H.; FUKUNAGA, N.; FUKUDA, S.; HATSUGAYA, A.; HAYASHI, T.; HARA, H.; KOIWA, M.; ABE, R.; KAWAMURA, S. 2005. Effects of nutritional conditions on changes in leukocyte populations in Japanese black calves. *Journal of Veterinary Medical Science* 67(2): 183 – 185.

ORTEGA, I.M.; FRANKLIN, W. 1995. Social organization, distribution and movements of a migratory guanaco population in the Chilean Patagonia. *Revista Chilena de Historia Natural*, 68, 498–500.

OSOFSKY, S.; HIRSCH, K. 2000. Chemical restraint of endangered mammals for conservation purposes: a practical primer. *Oryx* 34(1): 27–33.

PUIG, S.; VIDELA, F.; MONGE, S.; ROIG, V. 1996. Seasonal variations in guanaco diet (*Lama guanicoe* Müller 1776) and food availability in Northern Patagonia, Argentina. *Journal of Arid Environments* 34: 215-224.

PUNTEL, M.; FONDEVILA, N.A.; BLANCO VIERA, J.; O'DONNELL, V.K.; MARCOVECCHIO, J.F.; CARRILLO, B.J.; SCHUDEL, A.A. 1999. Serological Survey

of Viral Antibodies in Llamas (*Lama glama*) in Argentina. Journal of Veterinary Medicine Series B 46 (3) , 157–162

RAEDEKE, K.J. 1976. La inmovilización de guanacos (*Lama guanicoe*) con cloruro de succinilcolina. Anales del Instituto de la Patagonia 7: 185-188.

RAEDEKE, K. 1979. Population dynamics and socioecology of the guanaco (*Lama guanicoe*) of Magallanes, Chile. Doctoral Dissertation. College of Forest Resources University of Washington.

RANHEIM, B.; HORSBERG, T.E.; SØLI, N.E.; RYENG, K.A.; ARNEMO, J.M. 2000. The effects of medetomidine and its reversal with atipamezole on plasma glucose, cortisol and noradrenaline in cattle and sheep. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics 23(6): 379 – 387.

SARNO, R.J.; HUNTER, R.L.; FRANKLIN W.L. 1996. Immobilization of guanacos by use of tiletamine/zolazepam. Journal of American Veterinary Medical Association 208(3): 408-409.

SARNO, R.J.; BANK, M.S.; STERN, H.S.; FRANKLIN, W.L. 2003. Forced dispersal of juvenile guanacos (*Lama guanicoe*): causes, variation, and fates of individuals dispersing at different times. Behavioral Ecology and Sociobiology 54: 22-29.

SARTIN, E.A.; CROWE, D.R.; WHITLEY, E.M.; TREAT, R.E.; PURDY, S.R.; BELKN, E.B. 2004. Malignant neoplasia in four alpacas. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation 16: 226-229.

SCHALM, O.W.; JAIN, N.C.; CARROL, E.J. 1975. Veterinary Hematology. 3rd. ed. Lea and Febiger, Philadelphia, 807p.

THURMON, J.C.; TRANQUILLI, W.J.; BENSON, G.J. 1999. Essentials of Small Animal Anesthesia and Analgesia. Lippincott Williams e Wilkins, Philadelphia, 580 p.

VENEGAS, X. 2006. Evaluación del efecto de tres combinaciones de drogas para inmovilización química a distancia sobre variables fisiológicas y bioquímicas en guanacos (*Lama guanicoe*) silvestres. Memoria para optar al Título de Médico Veterinario. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Santo Tomás. Santiago, Chile. 55 p.

VENKATAMARAN, B.V.; NAGA RANI, M.A. 1993. Medetomidine – A new selective alpha2-adrenoceptor agonist. Indian Journal of Pharmacology 25: 188-192

VERGARA, J.F. 2004. Primera detección en Chile de anticuerpos seroneutralizantes contra Herpesvirus Equino Tipo 1 en Camélidos Sudamericanos. Memoria para optar al Título Profesional de Médico Veterinario. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile. Santiago, Chile. 44 p.

WHEELER, J. 1995. Evolution and present situation of the South American Camelidae. Biological Journal of the Linnean Society. 54: 271 – 295.

ZAPATA, B.; FUENTES, K.; BONACIC, C.; GONZALEZ, B.; RIVEROS, J.L.; MARÍN, M.P.; BAS, F. 2002. The effect of castration on plasma cortisol level and time budget in farmed guanaco calves (*Lama guanicoe*). Proceedings of the British Society of Animal Science 2002, 214. British Society of Animal Science.

ZAPATA, B.; FUENTES, V.; BONACIC, C.; GONZALEZ, B.; VILLOUTA, G.; BAS, F. 2003. Haematological and clinical biochemistry findings in captive juvenile guanacos (*Lama guanicoe* Müller 1776) in central Chile. Small Ruminant Research 48: 15-21.

ZAPATA, B.; GIMPEL, J.; BONACIC, C.; GONZALEZ, B.A.; RIVEROS, J.L.; RAMÍREZ, A.M.; BAS, F.; MACDONALD, D.W. 2004. The effect of transport on cortisol, glucose, heart rate, leukocytes and body weight in captive-reared guanacos (*Lama guanicoe*). Animal Welfare 13 (4): 439-444.

ANEXOS

ANEXO 1: Peso corporal e identificación.

ID	Sexo	Perímetro torácico (cm)	Peso inicial estimado (Kg)	Peso vivo calculado (Kg)
2106	Hembra	110	100	91,4
2206	Hembra	110	100	91,4
2306	Hembra	118	90	113,1
001	Hembra	112	100	96,5
002	Hembra	116	100	107,4
003	Hembra	116	90	107,4
004	Hembra	112	90	96,5
005	Macho	120	110	119,1
006	Hembra	112	90	96,5
007	Macho	108	100	86,4

ID: Identificación

ANEXO 2: Variables anestesiológicas individuales.

ID	Dosis (mg)			Tiempos de acción (min)			
	Medet.	Ket.	Atip.	TS	TI	TLA	TR
2106	0,11	2,19	0,11	2	3	0	5
2206	0,11	2,19	0,22	2	7	6	6
2306	0,08	1,86	0,09	4	6	0	0
001	0,10	2,07	0,16	4	6	9	9
002	0,09	1,86	0,14	7	9	10	14
003	0,08	1,96	0,08	8	9	1	1
004	0,09	2,18	0,09	5	7	9	12
005	0,09	1,60	0,09	5	5	6	15
006	0,09	2,18	0,10	24	31	5	13
007	0,12	2,31	0,12	2	4	3	7

ID: Identificación

TS: Tiempo de sedación

TI: Tiempo de inducción

TLA: Tiempo de latencia del efecto del antagonista

TR: Tiempo de recuperación

ANEXO 3: Variables fisiológicas individuales.

ID	FC 1	FC 2	FR 1	FR 2	TR 1	TR 2
2106	44,0	42,0	28,0	21,0	38,3	38,1
2206	36,0	36,0	32,0	20,0	39,3	35,5
2306	36,0	48,0	32,0	24,0	37,8	37,8
001	44,0	40,0	28,0	44,0	38,1	37,8
002	36,0	32,0	36,0	16,0	38,3	38,3
003	52,0	56,0	32,0	28,0	38,0	38,1
004	28,0	24,0	36,0	28,0	37,8	37,9
005	28,0	24,0	36,0	32,0	38,3	38,3
006	40,0	40,0	28,0	32,0	37,9	38,0
007	28,0	28,0	28,0	28,0	37,8	36,5

ID: Identificación

1: medición a los 10 min

2: medición a los 20 min.

FC: frecuencia cardiaca

FR: frecuencia respiratoria

TR: temperatura rectal

ANEXO 4: Variables hematológicas individuales.

ID	Cortisol nmol/L	% Linfocitos	% Neutrófilos Segmentados	Relación N:L
2106	83,8	54,0	40,0	0,85
2206	141,8	27,0	67,5	2,59
2306	92,1	88,5	9,5	0,12
001	71,4	71,5	26,0	0,39
002	100,6	67,5	30,0	0,47
003	118,8	68,0	27,0	0,44
004	63,8	78,0	13,0	0,26
005	50,1	67,0	26,3	0,49
006	94,6	80,0	16,5	0,24
007	65,2	79,5	20,5	0,26

ID: Identificación

Relación N:L: Relación neutrófilos:linfocitos