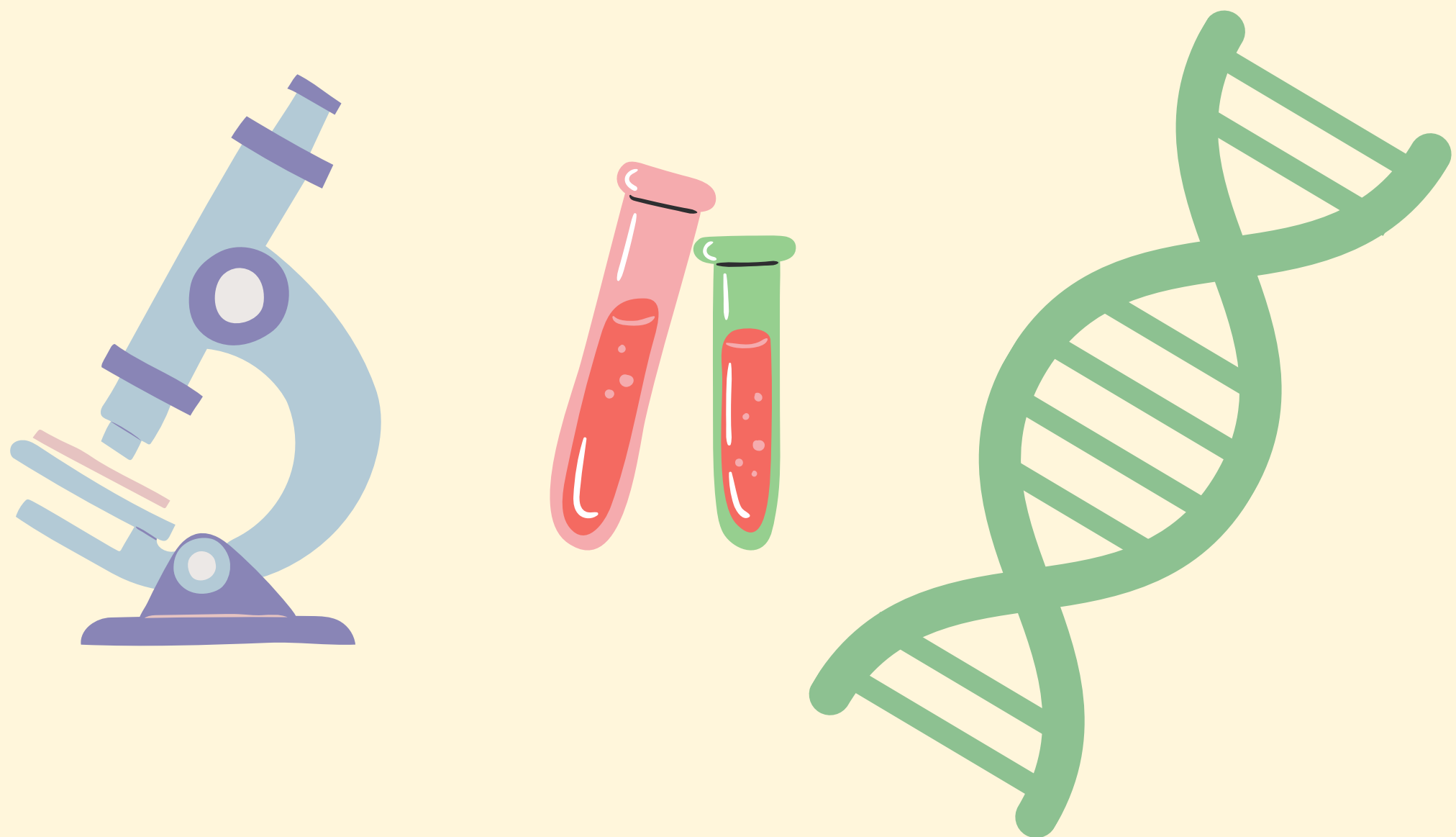




GUÍA PARA LA COLECTA DE MUESTRAS BIOLÓGICAS DE ESPECIES SILVESTRES PARA ANÁLISIS MOLECULARES



Versión 1.0 del grupo de trabajo colaborativo.

Esta guía fue financiada por el Departamento del Interior de los Estados Unidos, Programa de Asistencia Técnica Internacional (DOI-ITAP).



DEPARTAMENTO DEL INTERIOR
DE LOS ESTADOS UNIDOS
**PROGRAMA DE ASISTENCIA
TÉCNICA INTERNACIONAL**

En colaboración con:



UNIVERSIDAD
DE ANTIOQUIA
1 8 0 3



EndPandemics
PROTECT NATURE



NPC
Neotropical Primate
Conservation

© Universidad de Antioquia

ISBN IMPRESO: 978-628-7592-82-7

ISBN DIGITAL: 978-628-7592-83-4

Primera edición: 2023

impresión y terminación: Arte servicios

Impreso y hecho en Colombia / Printed and made in
Colombia.

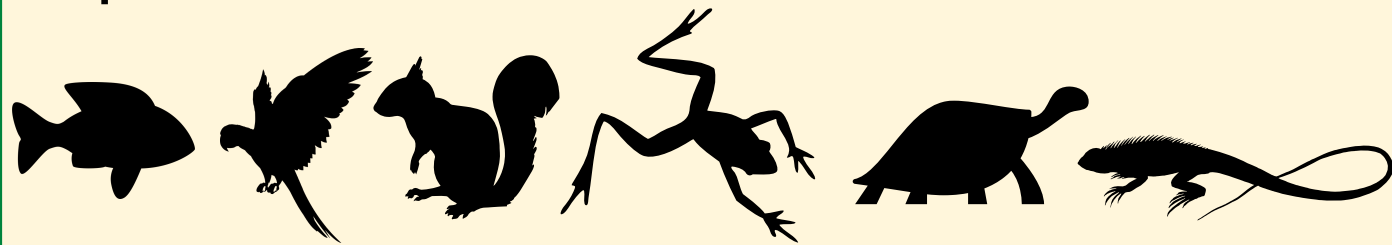
El contenido de la obra corresponde al derecho de expresión de los autores y no compromete el pensamiento institucional de la Universidad de Antioquia.

Citación sugerida:

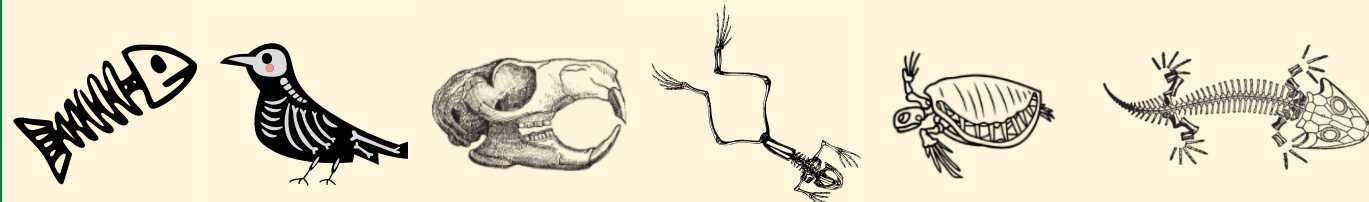
Soto-Calderón, I.D., Salazar-Meneses, M.F., Maldonado, A.M., Mendoza A.P. Del Valle-Useche, C.M & Ussa-Pérez, D.A. (Eds). 2023. Guía para la colecta de muestras biológicas de especies silvestres para análisis genéticos. Versión 1.0. 28p

Tabla de contenido

Especímenes vivos:



Especímenes muertos:



Representación gráfica de:
peces, aves, mamíferos,
anfibios y reptiles,
respectivamente.

- Introducción y objetivo----- 4
- Instrumentos e insumos necesarios para la toma de muestras biológicas----- 5
- Preservantes y su composición----- 6
- Marcado y etiquetado de las muestras----- 7
- Recomendaciones al momento de tomar muestras----- 8
- Tipos de muestras (invasivas y no invasivas)----- 9
- Muestras de heces----- 10
- Superficies, mucosas y secreciones-----11
- Muestras de pelo con bulbo-----13
- Muestras de plumas----- 14
- Muestras de escamas y sangre periférica venosa-----15
- Muestras de especímenes muertos-----18
 - Corte de aleta-----18
 - Corte de falanges, cola y escamas-----19
 - Piel (peletería) y huesos-----20
 - Uñas y dientes, músculo-----21
 - Otros tejidos (órganos internos)-----22
- Condiciones de almacenamiento y transporte de muestras-----23
- Resumen del proceso de recolección y Bibliografía---- -----25

Introducción



Los países amazónicos cuentan con el privilegio de albergar en su territorio una gran riqueza de especies, cuya conservación y aprovechamiento sostenible requiere de la incorporación de información biológica. El uso de métodos moleculares se ha convertido en una herramienta fundamental en la gestión de la biodiversidad, permitiendo identificar especies, explorar posibles rutas de tráfico de fauna y flora, identificar conectividad entre poblaciones y entender la biología de las especies, entre otros aspectos. Los métodos moleculares, especialmente la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), son también usados para la detección e identificación de agentes infecciosos como virus, bacterias y parásitos, permitiendo evaluar su impacto en las especies silvestres. Sin embargo, estas aproximaciones requieren de la generación de una línea base de información. Para ello, es necesario la consolidación de colecciones biológicas a partir de muestras y tejidos de la biodiversidad debidamente preservados y codificados. Esta guía busca proporcionar protocolos sencillos, comprensibles y prácticos que permitan preservar material biológico de fauna para la obtención y procesamiento de material genético y detección de agentes infecciosos.

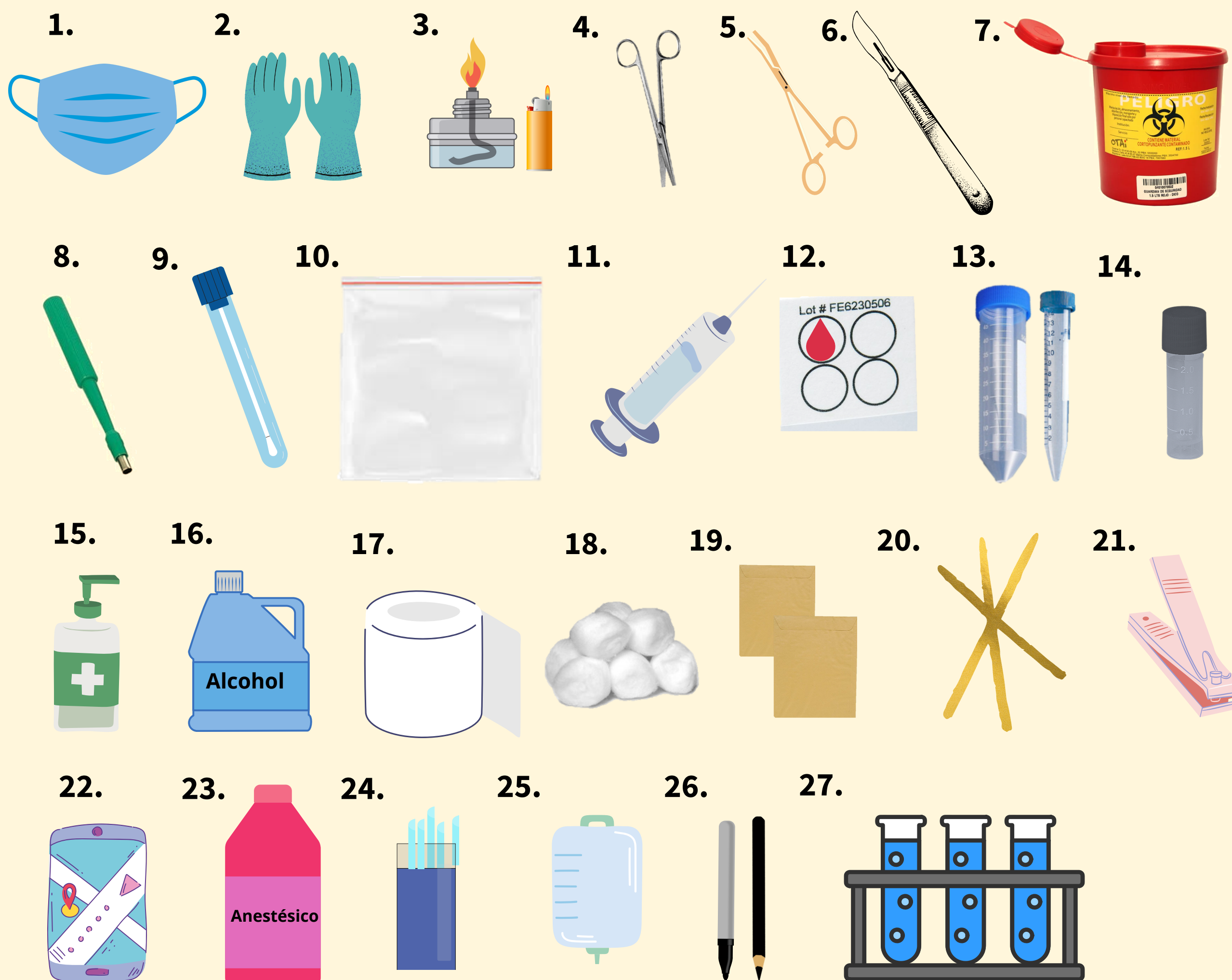
Objetivo



Obtener muestras biológicas derivadas de especímenes silvestres utilizando métodos que permitan maximizar la cantidad y calidad del material genético para ensayos de genética molecular.

Para el diseño de esta guía se usaron como referentes el "Manual de toma de muestras biológicas de especies silvestres con fines de identificación", realizado por la Policía Nacional de Colombia (2021) y el manual de "Recolección de tejidos biológicos para análisis genéticos", realizado por el Instituto de Investigación de Recursos Biológicos, Alexander von Humboldt (2017).

Instrumentos e insumos necesarios para la toma de muestras biológicas



1. Tapabocas o mascarilla facial
2. Guantes
3. Mechero y encendedor
4. Tijeras de disección
5. Pinzas
6. Cuchillas y/o bisturí de disección
7. Guardian o recipiente para punzo cortantes
8. Sacabocado
9. Hisopo de polyester
10. Bolsas de plástico herméticas (tipo ziplock)
11. Jeringas y agujas hipodérmicas
12. Tarjetas FTA para toma sangre
13. Tubos cónicos de 15ml y 50ml
14. Crioviales de 2ml
15. Alcohol medicinal
16. Alcohol industrial (para mechero)
17. Toallas de papel
18. Algodón
19. Bolsa o sobre de papel
20. Palos de madera
21. Cortauñas
22. GPS o celular con sistema de geolocalización activo (ej: App Timestamp Camera)
23. Anestésico
24. Tubos capilares
25. Suero, solución salina o solución hidratante
26. Marcador de tinta indeleble o lápiz
27. Caja portaviales

Preservantes y su composición

Estas son las soluciones que permiten conservar la muestra hasta su envío al laboratorio para el análisis molecular. Estos reactivos deben ser preparados en condiciones estériles en el laboratorio y puestos a disponibilidad del personal en campo para su uso.

Etanol al 96%	Tipo de muestra: sangre y tejidos.
Buffer Longmire	Composición: 100mM Tris Base, 100mM EDTA, 10mM NaCl, 0.5% SDS, 0.2% Azida de sodio. Tipo de muestra: Heces.
PBS	Composición: 137 Mm NaCl, 2.7mM, 10mM NaH ₂ PO ₄ H ₂ O, 1.8mM KH ₂ PO ₄ . Tipo de muestra: Hisopados.
RNAlater	Composición: 0,5M EDTA, 1M Citrato de Sodio, Sulfato de amonio. Tipo de muestra: Heces, sangre, tejidos e hisopados.



Marcado y etiquetado de muestras



Todas las muestras colectadas deben estar debidamente etiquetadas. Marcar cada muestra con el código o el número del catálogo de colección, la fecha de colecta y coordenadas (en caso de un espécimen colectado en campo). El código asignado debe coincidir con el que se consigne en la etiqueta del espécimen, libreta de campo y bases de datos. El marcaje se debe realizar con un lapicero de tinta indeleble o un lápiz.

En la base de datos o la libreta de campo debe consignarse como mínimo la siguiente información:

- Código de la muestra
- Fecha de colecta
- Municipio y localidad de colecta
- Coordenadas geográficas (si son silvestres)
- Información taxonómica
- Sexo y rango de edad (infantil, juvenil, adulto)
- Tipo de muestra o tejido
- Tipo de preservante
- Datos del colector
- Detalles relevantes o notas adicionales sobre el estado en el que se encontró el animal

Recomendaciones al momento de tomar muestras



Usar guantes nuevos y tapabocas desechables, y recogerse el cabello en caso de que sea largo.



No hablar, toser o estornudar encima de las muestras o los instrumentos de colecta.



Asegurarse de tener todo lo necesario para la toma de la muestra, el rotulado y el método de almacenamiento (buffer, etanol, PBS, papel, etc.).



Esterilizar con el mechero y limpiar con alcohol los instrumentos de recolección como pinzas y tijeras cada vez que se procese una muestra. Puesto que los métodos genéticos son extremadamente sensibles, cualquier contaminación con una fuente externa de ADN puede llevar a generar datos erróneos o poco confiables.



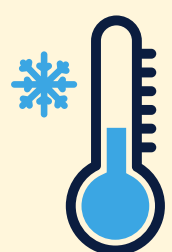
Recolectar preferencialmente muestras de tejido fresco.



La muestra colectada en un medio líquido debe quedar completamente sumergida en este.



Los tejidos que contienen el material genético tienden a degradarse con el tiempo. Es importante el envío de la muestra lo más pronto posible al laboratorio. En el caso de muestras fecales, la degradación ocurre rápidamente en los primeros días.

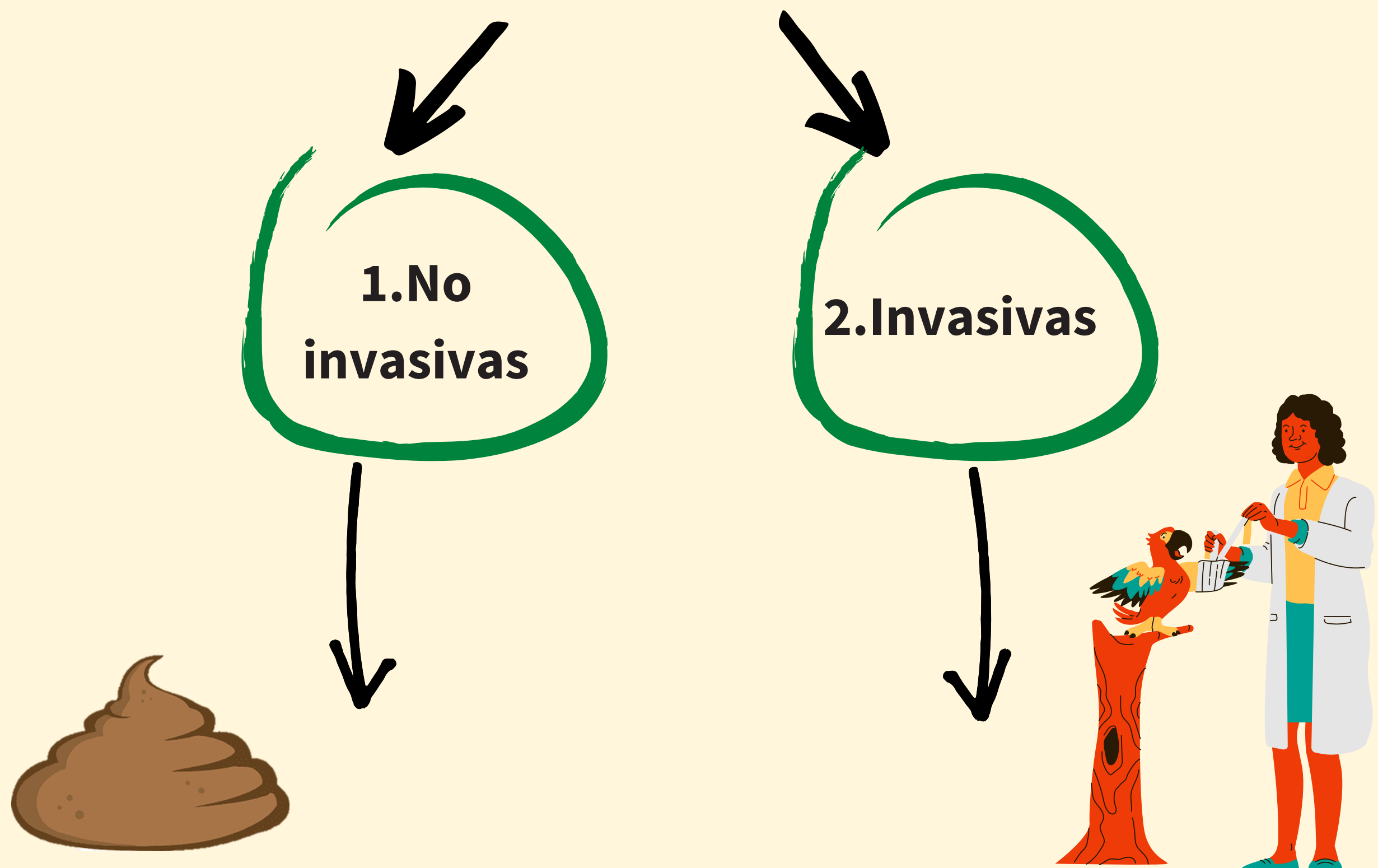


Si bien la refrigeración de la muestra a 4°C puede ser provechosa, ésta no se debe congelar, pues los ciclos de congelación y descongelación pueden acelerar el deterioro de la muestra.



Es importante tener siempre presente el cuidado adecuado y el trato que debe darse a los animales, es indispensable evitar cualquier incomodidad o dolor y se debe garantizar en todo momento la seguridad del animal, así como de quien toma la muestra.

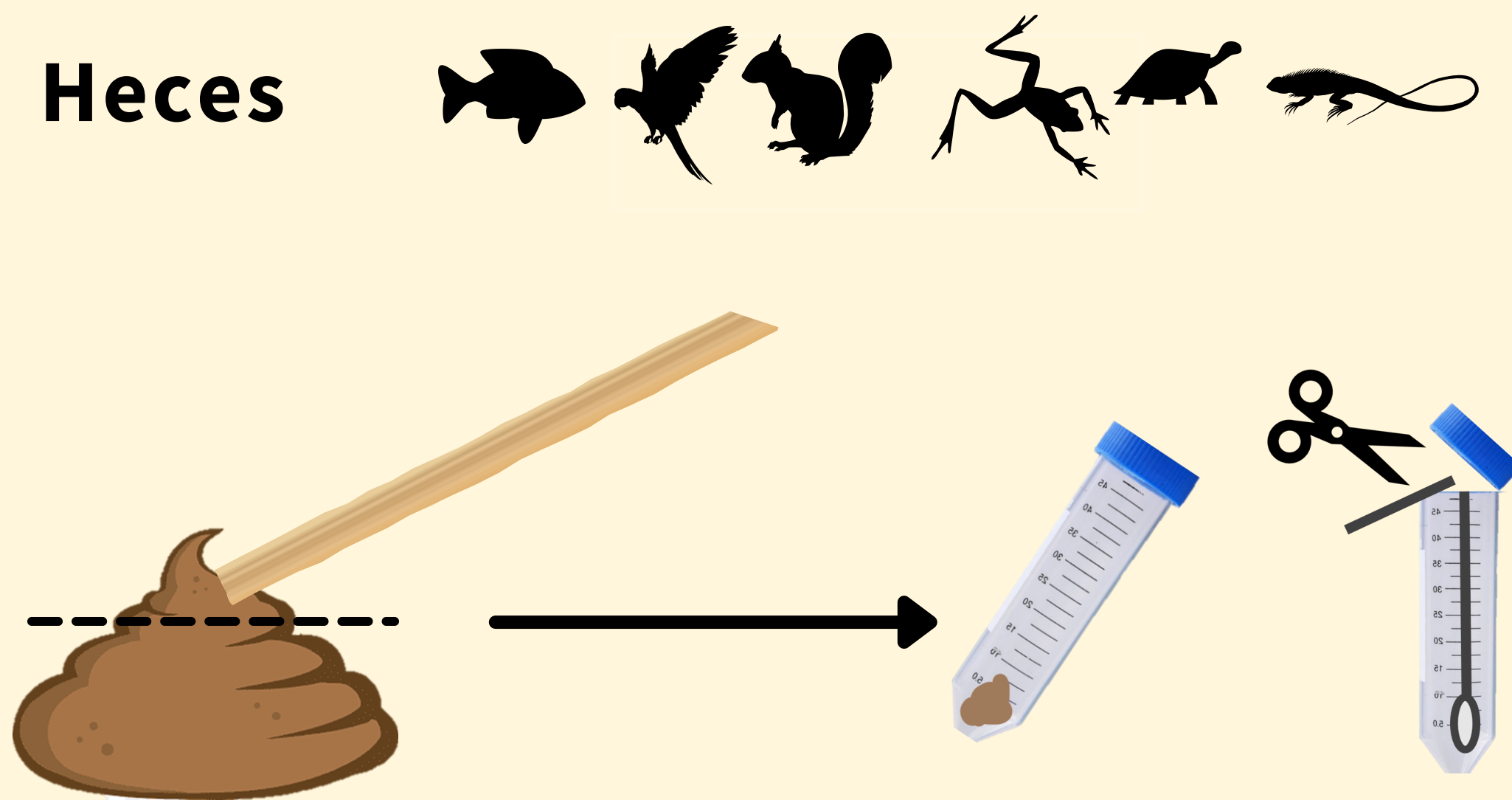
Tipos de muestras



Son aquellas muestras que se toman de manera oportunista y no es necesaria la presencia o acompañamiento de un profesional Médico Veterinario o Biólogo.

Son las muestras que requieren la manipulación del animal, en cuyo caso es necesaria la presencia o acompañamiento de un Médico Veterinario o Biólogo con entrenamiento específico en manejo de animales silvestres. **En caso de requerir toma de muestras de sangre, dicho procedimiento debe hacerlo el Médico Veterinario.**

Heces



Este tipo de muestras se toma de manera oportunista. El objetivo de las muestras fecales es obtener ADN de las células epiteliales del tracto intestinal del animal. Al momento de la deposición, se debe tomar con un pequeño palo de madera que no esté contaminado (puede ser uno del entorno) entre 0.5 y 2 gramos de materia fecal de la parte más externa que no esté en contacto con el suelo (aquella que estuvo en contacto con la pared intestinal). Se almacena la muestra en un tubo con buffer Longmire o RNAlater, el cual puede ser de 15 o 50ml dependiendo de la facilidad, dando prelación al tubo de 15ml. Debe asegurarse que la muestra quede completamente sumergida en el buffer preservante. Se tapa bien el tubo, se rotula con marcador indeleble en un costado y se guarda hasta ser enviado al laboratorio.

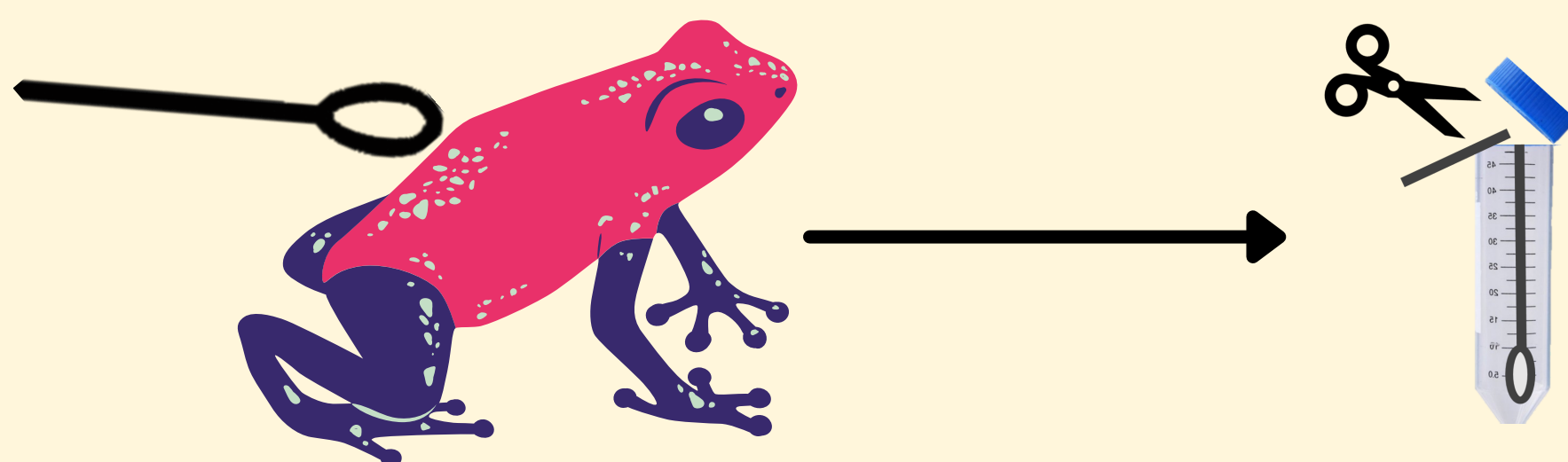
En el caso de que no se cuente con deposiciones fecales, se recomienda remojar un hisopo con PBS o suero fisiológico y frotarlo sobre la parte externa del recto o cloaca. Se almacena la muestra en un tubo cónico de 15ml con preservante; romper el mango o cortarlo con tijeras de tal manera que la parte que ha sido manipulada quede fuera del tubo y que el tubo se pueda cerrar adecuadamente. Se rotula y se guarda hasta ser enviada al laboratorio. En caso de ser posible, refrigerar la muestra a 4°C (sin congelar).

Superficies, mucosas y secreciones



Usar siempre hisopos estériles, de preferencia con mango de plástico. Luego de abrir el empaque, se debe sujetar el hisopo lo más lejos posible del extremo con el que se colectará la muestra. Una vez tomada la muestra, se debe colocar el hisopo en un criovial de 2ml o un tubo Falcon estéril de 15ml con suficiente preservante para cubrir la cabeza del hisopo completamente. Cortar con tijeras la parte del hisopo que sobresalga del tubo, de tal manera que este se pueda cerrar adecuadamente. Rotular y guardar hasta ser enviado al laboratorio. En caso de ser posible, refrigerar la muestra a 4°C (sin congelar). Si se van a colectar muestras de distintos animales, limpiar y esterilizar las tijeras antes de empezar con el siguiente animal.

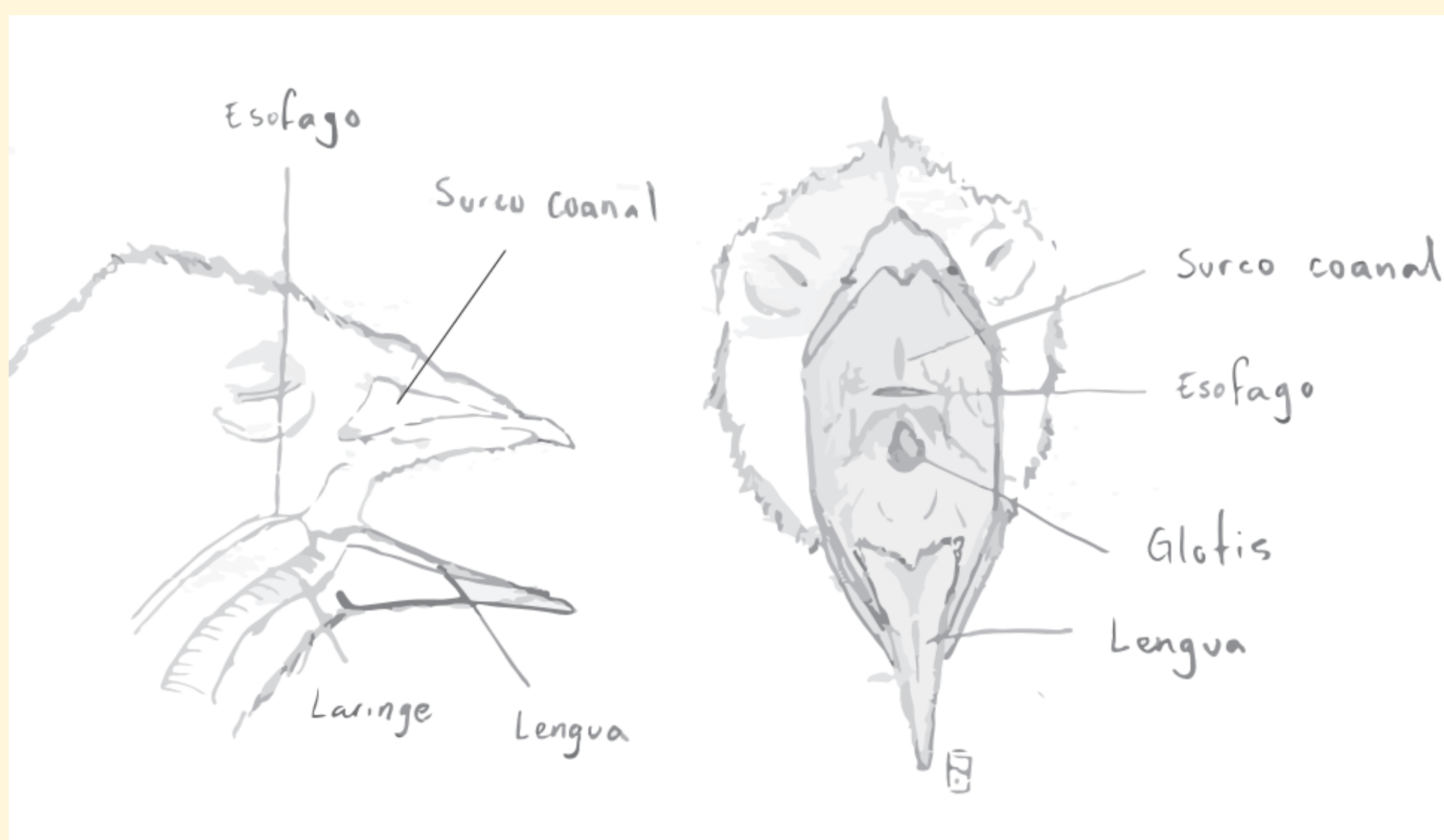
Hisopado de superficies



Estas muestras son de utilidad para la evaluación de ADN ambiental (eDNA), superficies contaminadas con secreciones y composición microbiana de piel. Con un hisopo estéril frotar la superficie que se desea evaluar, si hay fluidos o secreciones frescas (sangre, linfa, saliva, pus, exudado, etc.) se frota el hisopo seco por unos segundos hasta que esté cubierto por completo. Si la superficie está seca, se humedece primero el hisopo con etanol al 96%, PBS o RNAlater y luego se frota.

Hisopado de mucosas (cavidad oral, genital, cloacal, etc).

Estas muestras son útiles tanto para evaluar el ADN del animal, como para evaluar agentes infecciosos y/o analizar el microbioma de las especies silvestres. Para la detección de agentes infecciosos que se transmiten por la saliva o vía respiratoria (por ejemplo: hepatitis, rabia, herpesvirus, COVID-19, micoplasma, etc.), abrir la boca suavemente, pero de manera firme, de modo que no se pueda cerrar antes de realizar el procedimiento, ya que esto podría romper el hisopo y lesionar al animal. Introducir un hisopo estéril y frotar aproximadamente 5 veces contra el fondo de cada carrillo (espacio entre la encía y la pared interna de la mejilla). Para la detección de agentes que se transmiten principalmente por vía respiratoria tales como el virus de la Influenza, enfermedad de Newcastle, etc., usar un hisopo estéril de punta delgada e introducirlo suavemente en la cavidad nasal. En aves o reptiles, se recomienda pasar suavemente el hisopo por la apertura de la glotis (detrás de la lengua) y el surco coanal (paladar posterior), como se muestra en la siguiente figura.



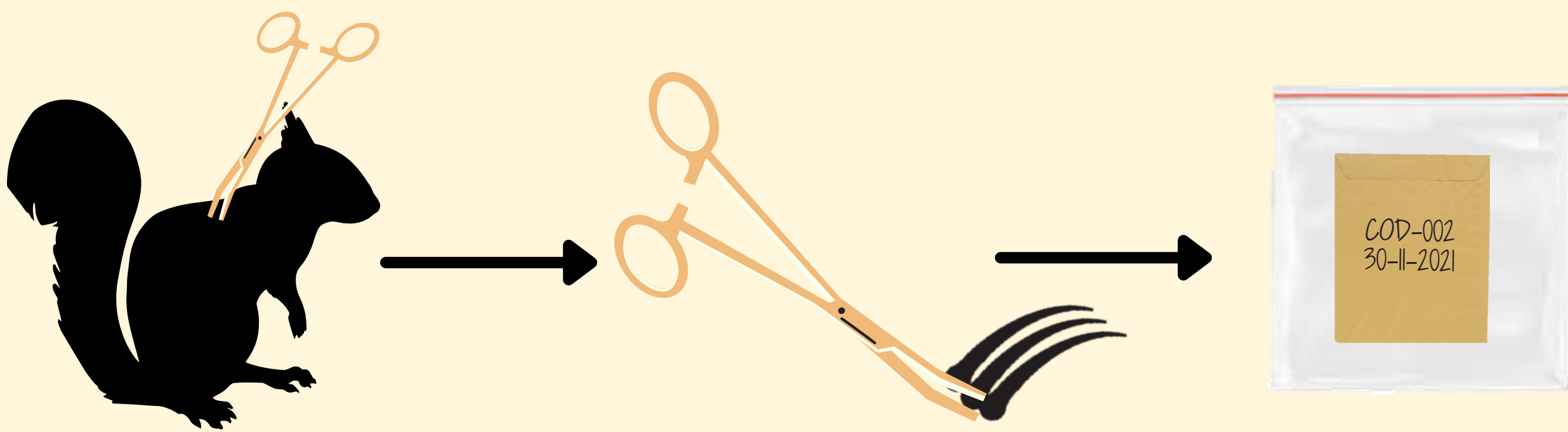
Para la evaluación de la mucosa genital, cloacal o rectal, introducir suavemente un hisopo estéril previamente humedecido con PBS, procurando que los lados del hisopo toquen las paredes internas de la cavidad. Retirar el hisopo lentamente sin girar.

Secreciones o fluidos (saliva, pus, líquido abdominal, etc)

Estas muestras son de especial interés para detectar agentes infecciosos con fines diagnósticos. Si la secreción es abundante, usar una jeringa estéril para absorber 0.5 – 1ml de secreción y colocarlo en un tubo con etanol al 96%, PBS o RNAlater, manteniendo una proporción de 1:5 (1 volumen de secreción + 4 volúmenes de preservante). Si la secreción es escasa o muy viscosa, usar un hisopo estéril y frotar la superficie en la que se encuentra el fluido hasta humedecerlo por completo.

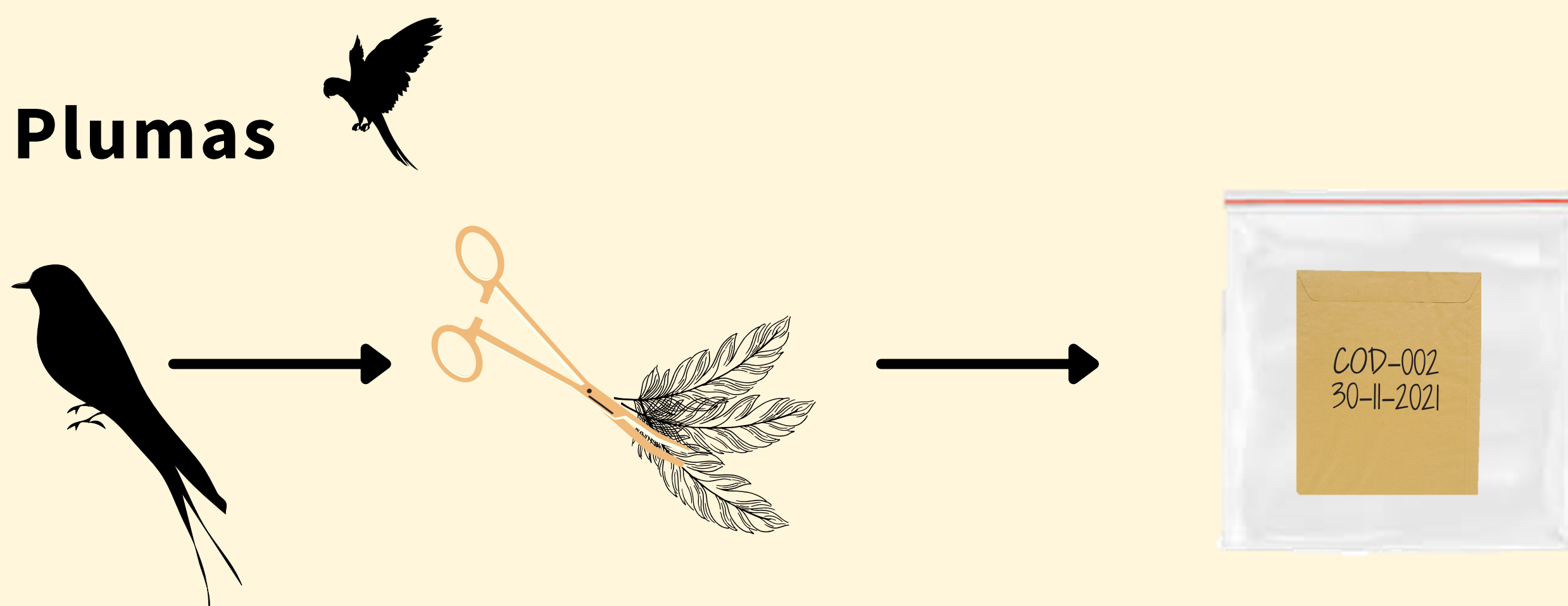
En caso de sospechar un proceso infeccioso (muestras colectadas de animales enfermos o durante necropsia), tomar nota de las lesiones, signos o síntomas observados a fin de guiar el proceso diagnóstico.

Pelos con bulbo



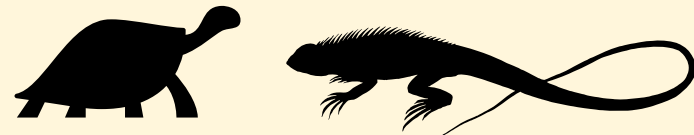
Evitar tomar muestras de pelo que puedan tener algún tipo de función sensorial como los bigotes, pestañas, vibrissas, entre otros. La muestra se debe tomar preferiblemente de áreas como: el cuello, miembros anteriores, región ventral y dorsal. De un tirón rápido y agarrando con pinzas grandes se tira un mechón de entre 10 y 20 pelos con bulbo o folículo piloso (región proliferativa con células vivas).

El mechón de pelo debe jalarse en la dirección del crecimiento, con el fin de conservar la integridad del bulbo. Es más eficiente y menos invasivo repetir el procedimiento para mechones pequeños, que tratar de obtener muchos pelos en un solo intento. Se deposita la muestra en una bolsa de papel o una servilleta nueva, la cual a su vez se guarda en una bolsa de plástico con cierre hermético (tipo ziplock). Se rotula el sobre con marcador indeleble y se almacena la muestra en un sitio fresco y protegido del sol hasta su llegada al laboratorio.



Se recomienda no tomar muestras de plumas de alas o cola. La muestra se debe tomar del plumaje pectoral. Con la ayuda de una pinza, se arranca pluma por pluma de la región pectoral ventral o dorsal halando en dirección del crecimiento, para un total de tres a cinco plumas. Se almacenan las plumas a temperatura ambiente en un sobre de papel y a su vez en una bolsa plástica con cierre hermético debidamente rotulado con marcador indeleble. Se almacena la muestra en un sitio fresco y protegido del sol hasta su llegada al laboratorio.

Escamas



Escamas caudales (lagartos): Una vez inmovilizado el animal se toma la muestra con una pinza sujetando una escama de la cresta caudal para posteriormente cortarla con el bisturí. La escama cortada se deposita en criovial con etanol 96% y se rotula muy bien.

Escamas de las extremidades (tortugas): Una vez inmovilizado el animal se toma la muestra con una pinza sujetando una escama ya sea de las patas traseras o delanteras y se corta la escama con un bisturí. Se deposita la muestra en un criovial con etanol 96% y se rotula muy bien.

Uña (Reptiles): Una vez inmovilizado el animal se procede a tomar la muestra de uñas, con un cortauñas de uso veterinario o en su defecto convencional, realizando el corte preferiblemente que contenga el vaso sanguíneo. Aproximadamente tres fragmentos de uña se depositan en criovial con etanol 96% y se rotula.



Nota: Aunque estos procedimientos se traten de muestreos invasivos de bajo impacto, podrían generar dolor. Con el fin de evitar accidentes, es importante que el animal se encuentre bien inmovilizado antes de tomar la muestra.

Sangre periférica venosa

Este tipo de muestra es invasiva y por lo tanto debe ser tomada por un médico veterinario o un Biólogo entrenado. Para minimizar el estrés, es preferible que el animal se encuentre parcial o totalmente sedado o tranquilizado farmacológicamente. En los casos en que no se realice sedación o contención química, es indispensable que el animal se encuentre totalmente inmovilizado por un operario debidamente entrenado para el caso.

Mamíferos



El animal debe estar perfectamente inmovilizado. Con una jeringa se toma 0.5ml de sangre de la vena femoral, braquial, safena, yugular o caudal, siempre y cuando esto no represente más del 1% del peso total del animal. La muestra se deposita en un criovial con etanol al 96%, se tapa bien y se rotula. Alternativamente se puede preservar la sangre en un criovial con solución Longmire o RNAlater.

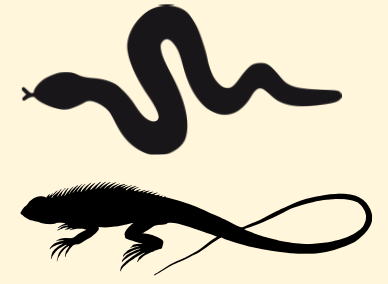
Aves



Sujetar al espécimen debidamente de modo que quede completamente inmovilizado. Extender el cuello del ave suavemente y sujetar firmemente de modo que este no pueda ser retraído ni girado por el ave. Mojar las plumas con alcohol y separarlas exponiendo la vena yugular derecha. Con la ayuda de una jeringa estéril, coleccionar 0.1 - 0.5ml de sangre siempre que esto no represente más del 1% del peso total del ave. Alternativamente se puede coleccionar sangre de la vena braquial, en cuyo caso se debe extender una de las alas completamente, mojar las plumas con etanol para despejar el área de la vena braquial mojando las plumas con etanol. Usando este acceso venoso, se puede coleccionar la sangre con una jeringa esteril o en el caso de animales muy pequeños, punzar la vena diagonalmente con una aguja estéril y recoger la sangre en un tubo capilar estéril.

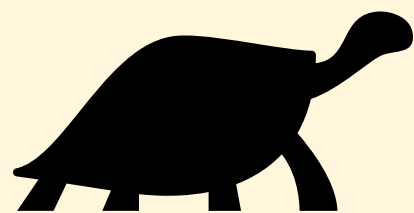
Transferir la sangre colectada, o el capilar, a un criovial con etanol 96%. Alternativamente se puede preservar la sangre en un criovial con solución Longmire o con otro tipo de buffer de lisis.

Serpientes y otros reptiles de cola larga



Se debe introducir una aguja estéril de 1 a 2mm hasta antes de tocar las vértebras caudales, entre los escudos ventrales cerca a la punta de la cola, siempre por detrás de la cloaca. Se extraen entre 0.1 y 0.5ml de sangre que debe ser luego depositada en criovial con etanol al 96%. Se tapa bien y se rotula.

Tortugas



Se debe realizar la punción con una aguja estéril en el seno venoso ubicado en la línea media de la porción posterior del primer escudo del caparazón. Se extraen entre 0.1 y 0.5ml de sangre y se deposita en un criovial con etanol 96%. Se tapa bien y se rotula.

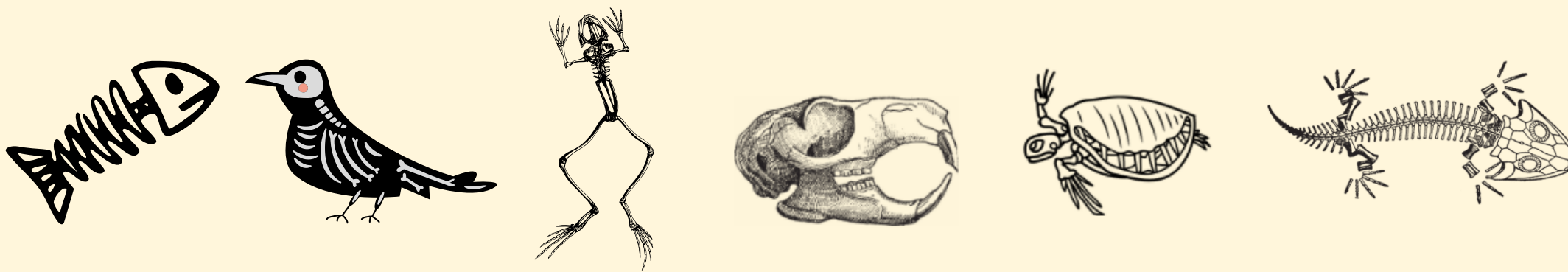
Nota:

Después de extraer la muestra de sangre, se debe presionar durante 2-4 minutos el sitio de la punción para detener el sangrado. Se recomienda la hidratación del animal posterior a la extracción de sangre.



En caso de no poder tomar un volumen de sangre adecuado, se pueden dejar caer entre dos y tres gotas de sangre sobre una tarjeta de papel FTA o papel filtro. Se debe dejar secar la sangre, se almacena la tarjeta de papel en una bolsa plástica de cierre hermético, se rotula y se almacena en un sitio fresco y protegido de la luz.

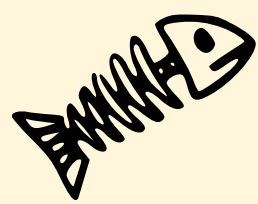
Toma de muestras de especímenes muertos



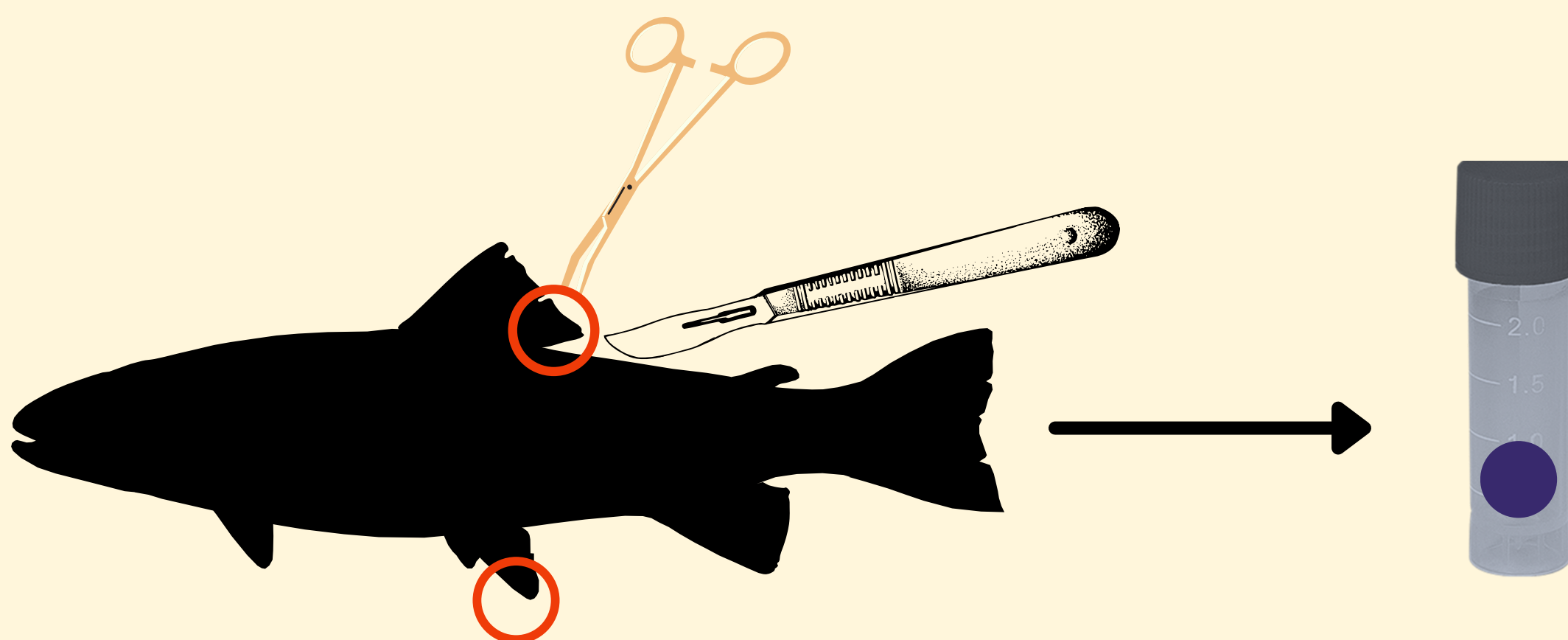
Las muestras de animales muertos o partes de animales deben ser tomadas con precaución debido a procesos de descomposición y la posible presencia de agentes contaminantes o infecciosos como hongos, bacterias, virus, etc.

Las muestras en animales muertos se toman de la siguiente manera:

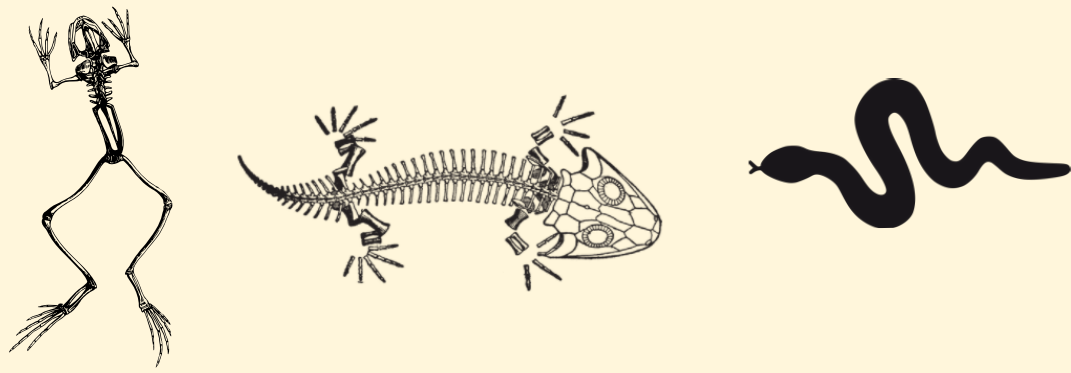
Corte de aleta



La forma adecuada de cortar la aleta ventral y/o dorsal en peces es fijarla muy bien con las pinzas, cortar con el bisturí e inmediatamente transferir a tubo cónico o criovial con etanol al 96% y rotular.

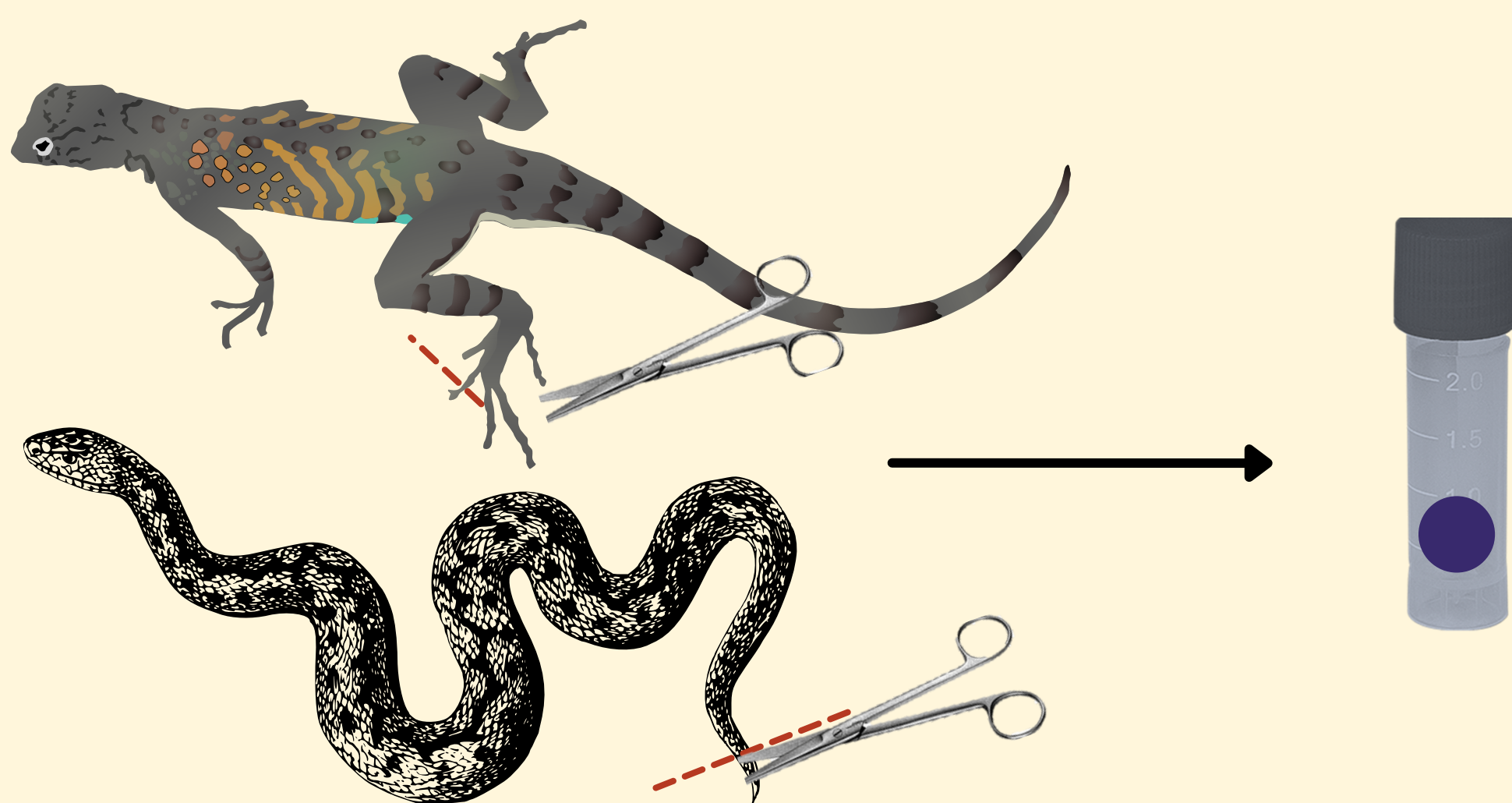


Corte de falanges, cola y escamas



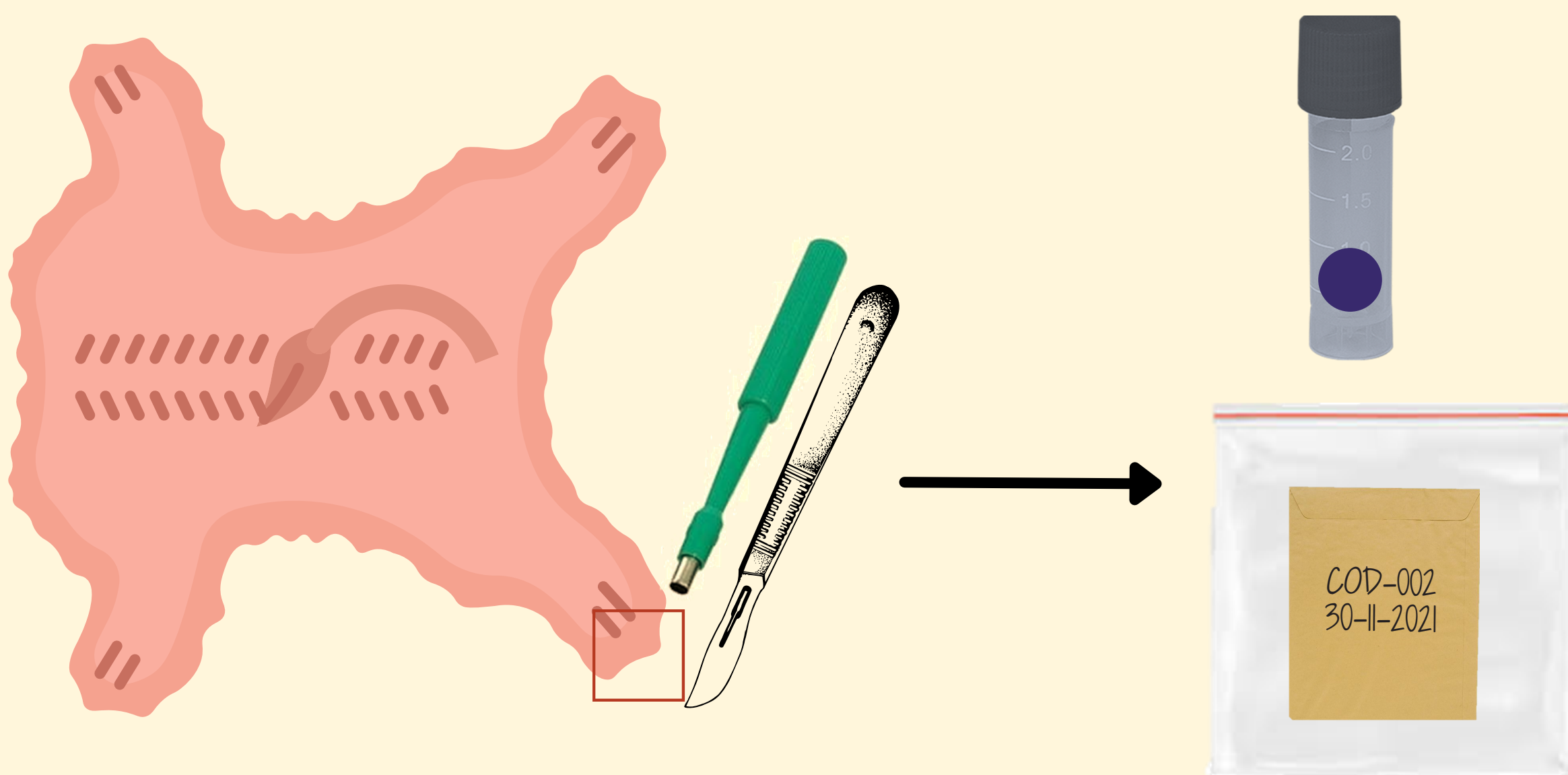
Lagartos pequeños y anfibios: con tijeras de disección se cortan dos falanges de dedos diferentes a la altura de la articulación (por ejemplo uno de extremidad anterior y otro de extremidad posterior).

Serpientes pequeñas y lagartos medianos: se cortan entre 0.5 y 2cm de la porción terminal de la cola. En serpientes grandes como boas y anacondas, o reptiles grandes como caimanes, cocodrilos, tortugas e iguanas se pueden cortar porciones de escamas ventrales no mayores de 0.5cm². Se debe envasar en tubo cónico o criovial con etanol lo más pronto posible, rotulando debidamente.



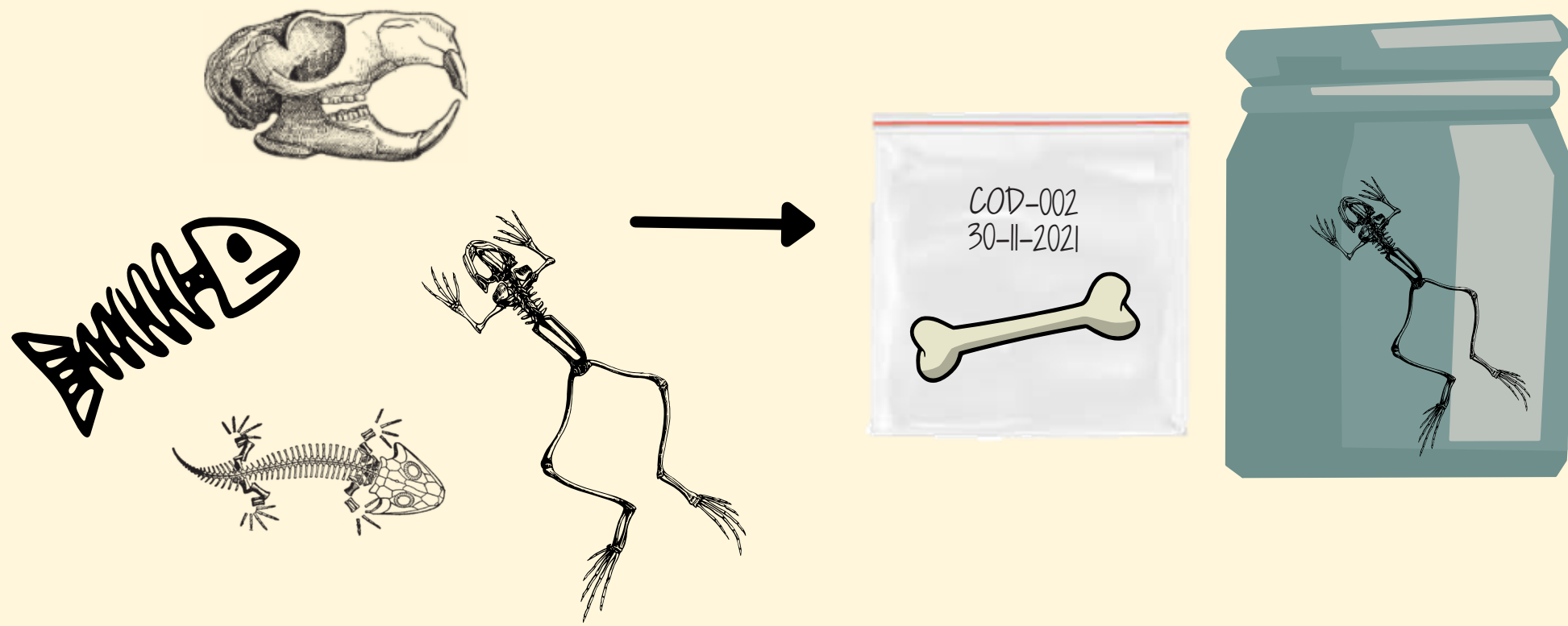
Piel (peletería):

La forma adecuada para la toma de la muestra es mediante el corte de un trozo de piel de aproximadamente 2 a 4cm² con el bisturí o sacabocados; dependiendo del estado de procesamiento de la piel la muestra debe ser guardada en seco en tubo estéril, en sobre de papel y bolsa plástica con cierre hermético, o en tubo cónico o criovial con etanol 96%.



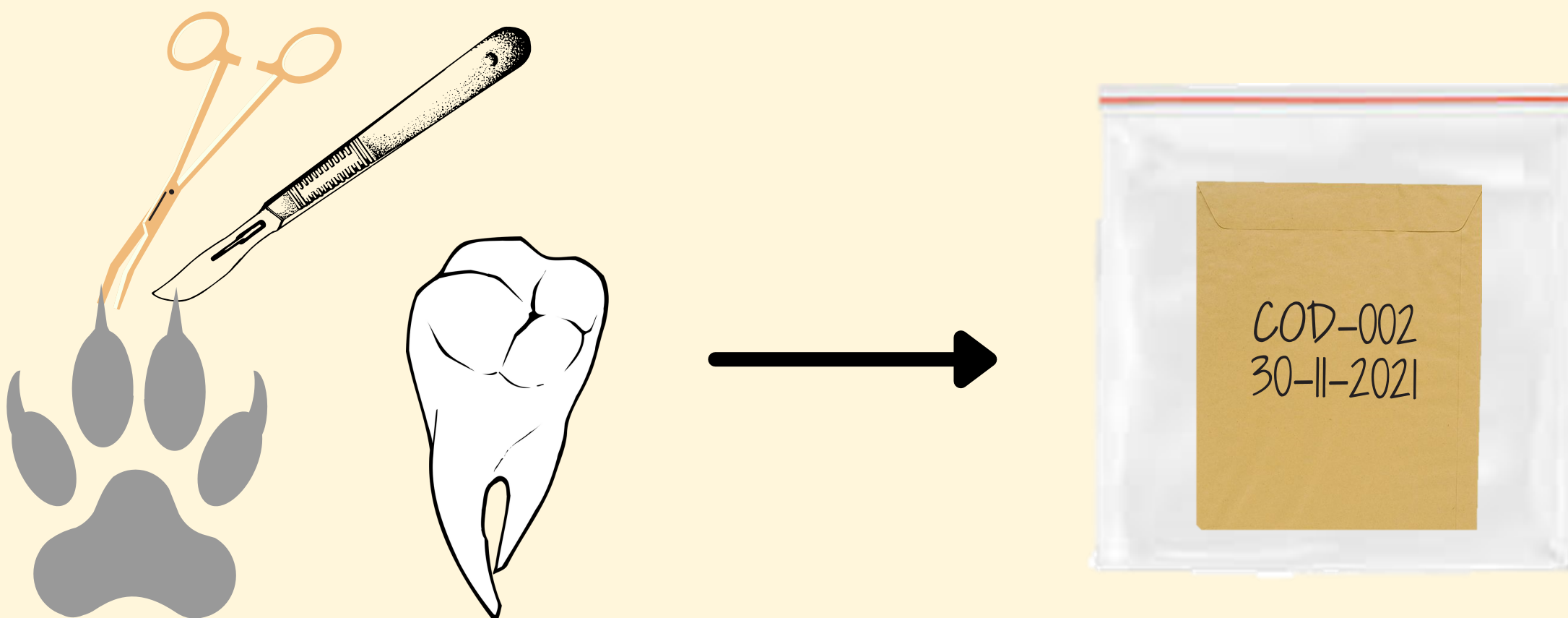
Huesos

Se recolecta el hueso completo, idealmente de miembros posteriores, anteriores o el cráneo. Los huesos secos se guardan en una bolsa plástica con cierre hermético. Huesos frescos o en algún grado intermedio de descomposición deben ser almacenados en etanol 96% en un contenedor apropiado para el tamaño de la pieza. Idealmente, dicho envase debe ser estéril. En todos los caso se debe rotular el contenedor para luego almacenarlo a temperatura ambiente.



Uñas y dientes

Extraer varias uñas o dientes del espécimen con pinzas y bisturí. Posteriormente se depositan en una bolsa plástica con cierre hermético, se rotulan y se envían al laboratorio.



Músculo

La forma adecuada para la toma de la muestra es realizar un corte de la piel del animal o la capa del músculo que se encuentre expuesta a las condiciones del medio y tomar aproximadamente un centímetro cúbico (1cm^3) del tejido. La muestra se almacena en tubo cónico o criovial con etanol 96% acorde al tamaño de la muestra.

Mamíferos: La parte ideal para obtención de muestras de músculo, generalmente es la de miembros anteriores o posteriores, pero también se puede obtener de la parte dorsal o ventral.

Aves: La parte ideal es la pechuga o la parte proximal de los miembros posteriores.

Reptiles grandes (caimanes, cocodrilos, tortugas iguanas, etc.): se puede tomar muestra de músculo de la cola o de las patas.

Anfibios anuros (ranas y sapos): tomar muestras de músculo de las ancas o miembros posteriores.

Peces: se toma la muestra de musculo de la zona dorsal del animal.

Otros tejidos (órganos internos)

La forma adecuada de tomar este tipo de muestras es mediante el corte con el bisturí de aproximadamente 1cm³ del tejido, de una sección que no esté expuesta al entorno. Se envasa en etanol 96% en un tubo cónico o criovial dependiendo del tamaño de la muestra y se rotula.

Condiciones de almacenamiento

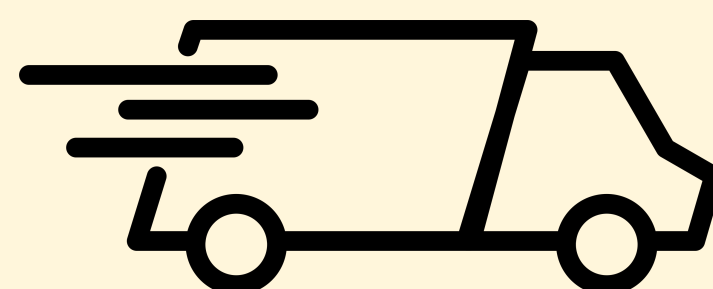


Todas las muestras consideradas en este manual pueden ser conservadas a temperatura ambiente para ser evaluadas mediante técnicas moleculares. Otros análisis, como cultivos bacterianos, aislamiento viral, detección de anticuerpos, etc. requieren otros tipos de muestras o condiciones de preservación no consideradas en esta guía.

Las muestras deben enviarse lo más pronto posible al laboratorio. En caso de que esto no sea posible, considerar el tiempo que pueden mantenerse en campo sin afectar su utilidad.

Muestras en PBS y en Muestras en Buffer Longmire	Enviar lo antes posible, el material se degrada continuamente desde el momento de la colecta.
Muestras en RNAlater	ADN: Varias semanas. ARN: Máximo una semana a temperatura ambiente. Hasta un mes en refrigeración.

Transporte de Muestras



Se debe tener en cuenta la normatividad del país de colecta y asegurarse de tener todos los permisos en regla antes de hacer cualquier envío (Ej. Permiso CITES, permiso de colecta, salvoconducto de movilidad, cumplir con requerimientos de bioseguridad de la agencia de envíos, etc).

Las muestras deben estar en tubo o criovial con tapa hermética para evitar derrames debidos al movimiento o cambio de presión. En caso de que los tubos no sean completamente herméticos, se recomienda reforzar el cierre de la tapa con papel de parafina (“Parafilm”) o “papel chicle” (envoltura de PVC – polivinilcloruro).

Idealmente, las muestras deben estar acomodadas con la tapa hacia arriba en una caja portaviales adecuada para el tamaño de los tubos. Adicionalmente al rotulado o etiquetado de los tubos, es recomendable rotular la tapa de cada uno con el código individual de la muestra, de modo que se pueda identificar sin necesidad de remover el tubo del contenedor. Es recomendable tomar registro fotográfico de la caja con muestras desde la vista superior, de tal manera que se vean con claridad los rótulos y distribución dentro del contenedor. Se debe asegurar la caja con una liga o banda de jebe, con cinta adhesiva o con “papel chicle” (envoltura de PVC – polivinilcloruro). En el caso de no contar con una caja portaviales, se puede utilizar alternativamente una gradilla o *rack*, asegurando los tubos con “papel chicle” o algún material de relleno (ej. papel arrugado o algodón) para evitar que estos se desacomoden.

Se debe imprimir y anexar al envío el consolidado con la información de las muestras, o enviar un archivo electrónico con el consolidado al laboratorio de referencia. Se debe empacar la caja, gradilla o rack en un contenedor que permita proteger las muestras de golpes y del ambiente. De preferencia usar cajas de poliestireno (“tecnopor” o “icopor”) o carton grueso, rellinando los espacios vacios con papel arrugado, o bolsas de aire. Antes de cerrar la caja, coloque en ella la documentación (consolidado de muestras y permisos). Marque debidamente la caja con el destinatario y remitente. En la medida de lo posible sírvase de una agencia de envíos certificada que garantice una entrega rápida y segura, así como un trato delicado de las muestras.

Resumen del proceso de recolección

- **Equipos y materiales necesarios**



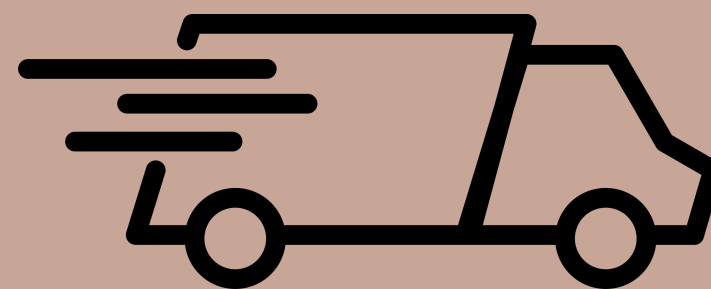
- **Recolección de muestras**



- **Marcaje y almacenamiento**



- **Envío al laboratorio**



Bibliografía

Arbeláez-Cortés, E., Torres, M. F., López-Álvarez, D., Palacio-Mejía, J. D., Mendoza, A. M., & Medina, C. A. (2015). Colombian frozen biodiversity: 16 years of the tissue collection of the Humboldt Institute. *Acta Biológica Colombiana*, 20(2), 163-173p.

Beaupre, S. J., Jacobso E. R., Lillywhite, H. B., & Zamudio, K. (2004). Guidelines for use of live amphibians and reptiles in field and laboratory research Second Edition, Revised by the Herpetological Animal Care and Use Committee (HACC) of the American Society of Ichthyologists and Herpetologists, 1-31p.

Cuadrado, M., Molina-Prescott, I., & Flores, L. (2003). Comparison between tail and jugular venipuncture techniques for blood sample collection in common chameleons (*Chamaeleo chamaeleon*). *The Veterinary Journal*, 166(1), 93-97p.

Fair, J., Paul, E., & Jones, J. Eds. 2010. *Guidelines to the Use of Wild Birds in Research*. Washington, D.C., Ornithological Council. 215p.

Gonzalez, M. A., Arenas-Castro, H. (Eds). 2017. *Recolección de tejidos biológicos para análisis genéticos*. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Bogotá, D. C., Colombia. 33p.

Kruger, K. M., Hines, H. B., Hyatt, A. D., Boyle, D. G., & Hero, J. M. (2006). Techniques for detecting chytridiomycosis in wild frogs: comparing histology with real-time Taqman PCR. *Diseases of aquatic organisms*, 71(2), 141–148. <https://doi.org/10.3354/dao071141>.

Laboratorio de Genética Animal, Universidad de Antioquia (2021). *Bitácora protocolos de laboratorio*. 109-110p.

McMichael, G. L., Gibson, C. S., O'Callaghan, M. E., Goldwater, P. N., Dekker, G. A., Haan, E. A., MacLennan, A. H., & South Australian Cerebral Palsy Research Group (2009). DNA from buccal swabs suitable for high-throughput SNP multiplex analysis. *Journal of biomolecular techniques: JBT*, 20(5), 232–235p.

Oldfield, C. (2014). How to obtain a blood sample in reptiles via venepuncture. *The Veterinary Nurse*, 5(9), 532-537p.

Policia Nacional de Colombia (2021). *Toma de muestras biológicas de especies silvestres con fines de identificación*. 2DC-GU-0053. 18p.

Rey Fraile, I. (2014). La conservación del patrimonio genético: colecciones de ADN y tejidos. Tesis doctoral, Universidad Complutense de Madrid. 327pp.

Romero, R. E., Sandoval, A., Arango, J., & Camargo, M. L. (2016). Evidencia genética revela oportunidades de mejora para preparación de tejidos en análisis forenses. *Colombia Forense*, 3(1), 87-96.

Sikes, R. S., & Animal Care and Use Committee of the American Society of Mammalogists. (2016). 2016 Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research and education. *Journal of mammalogy*, 97(3), 663-688.

Troiano, J. C. (2013). Colecta de muestras sanguíneas en reptiles. En: *Memorias de la Conferencia Interna en Medicina y Aprovechamiento de Fauna Silvestre, Exótica y no Convencional*. Vol. 9, No. 1, pp. 68-72.

Las ilustraciones usadas en esta guía son de libre acceso, fueron obtenidas en Canva® y en BioRender.com.

La ilustración que se encuentra en la página 13 fue realizada por García, Eloisa.