

EL USO DE HORMONAS PRESENTES EN HECES Y ORINA COMO TEST DE MEDIDA DEL ESTRÉS EN ANIMALES EN CAUTIVIDAD



A. MENARGUES¹, VICENTE URIOS¹ MANUEL LÓPEZ² & DANIEL SÁNCHEZ²



¹Estación Biológica Terra Natura (Universidad de Alicante – Fundación Terra Natura)
CIBIO (Centro Iberoamericano de la Biodiversidad). Instituto Universitario de Investigación. Universidad de Alicante. 03080, Alicante, España. *s.garcia@ua.es*

²Terra Natura SA. Foia del Verdader n°1, 03502 Benidorm, Alicante, España.



El objetivo de nuestra propuesta es cuantificar en la medida de lo posible la respuesta de animales de la colección zoológica del parque de Terra Natura a las técnicas de enriquecimiento ambiental. Para ello se propone medir el nivel de estrés de los animales

Hasta ahora, la medición del estrés o las repuestas a las modificaciones de su entorno se han restringido a la realización de etogramas (Guillén- Salazar, 2001) o a la medición del nivel de cortisol en sangre (Merino et al., 1998).

Esto tiene el inconveniente en el primer caso de cierta subjetividad y a la falta de un parámetro riguroso de comparación, y en el segundo caso el problema es que para la toma de muestras hay que capturar al animal con lo que se elevan sus niveles de estrés y sólo se pueden tomar referencias basales (Merino et al., 1998).

Nosotros proponemos transponer un método no invasivo utilizado en animales en libertad en los que se cuantifica el nivel de cortisol en orina y heces a los animales del parque Terra Natura para validar las técnicas de enriquecimiento ambiental aplicadas.

En sangre los glucocorticosteroides pueden ser transportados en forma de moléculas libres (que son metabólicamente activas) o unidas a proteínas (la transcortina y la albúmina). En condiciones normales, las formas libres del cortisol constituyen un 10% del total, pero en situaciones de estrés pueden llegar a ser un 20-30% del total. La forma libre atraviesa las membranas celulares, lo que permite detectarla en la saliva (Fell y Shutt, 1985).

El nivel de glucocorticosteroides se ha utilizado para valorar respuestas de estrés tanto en animales domésticos (Thurley y McNatty, 1973; Viñas et al., 1989; Hargreaves y Hutson, 1990; Sanhoury et al., 1992) como en salvajes (Franzmann et al., 1975; Seal y Bus, 1987; DelGiudice et al., 1990; Hastings et al., 1992; Morton et al., 1995).

La determinación de la concentración de metabolitos de los glucocorticosteroides en las heces puede ser especialmente útil como indicador fisiológico del estrés (Goyman et al., 1999) ya que no es necesario capturar ni inmovilizar a los animales, y las fluctuaciones debidas a los patrones de secreción se van atenuadas en las heces.



La medición de concentración de 11, 17-dioxoandrostano, un grupo de metabolitos del cortisol, ha resultado ser una técnica apropiada para medir la actividad adrenocortical en el corzo (Dehnhard et al., 2001). Dichos metabolitos también han sido utilizados en otras especies con el mismo fin [primates: Wallner et al., 1999; Bahr et al., 2000; rumiantes domésticos: Palme y Möstl, 1997; Palme et al., 2000; caballos y cerdos: Möstl et al., 1999; liebres (*Lepus europaeus*): Teskey-Gerstl et al., 1999; varios: Wasser et al., 2000].

El protocolo a seguir se describe a continuación:

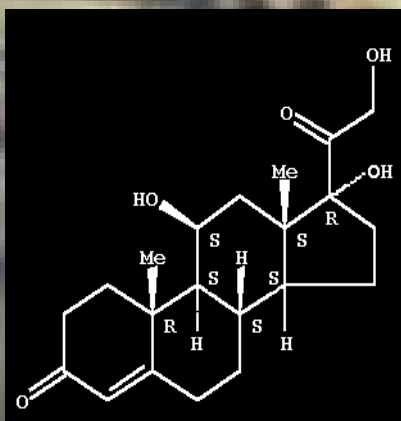
Se recoge una muestra de heces al día en un frasco estéril y etiquetado y se almacenará a -70°C hasta su análisis.

Los metabolitos se extraen con metanol y agua bidestilada de una porción de muestra homogeneizada, liofilizada y pulverizada. Después se centrifuga y el sobrenadante se somete a inmunoensayo enzimático para determinar la concentración de cortisol, corticoesterona y 11,17-DOA de acuerdo con el método de Palmer y Möstl (1997).

Para la separación y caracterización de metabolitos del cortisol se utiliza la cromatografía líquida de alta presión (HPLC), sobre el extracto realizado anteriormente con metanol y agua bidestilada. El metanol se evapora bajo un flujo de nitrógeno y la muestra se resuspende en metanol al 50% y se separa en columnas por el HPLC usando un gradiente lineal de 50-75% de metanol.

Los primeros resultados muestran que es económicamente viable y fiable según los resultados obtenidos en la planta de hormonas del Hospital General de Alicante.

La fase actual del trabajo es cuantificar el nivel de cortisol en función de los distintos parámetros ambientales de enriquecimiento ambiental.



BIBLIOGRAFÍA

- Dehnhard, M., Rohleder, M., Klein, B., Lechner-Doll, M., and Palme, R. (1998). *Noninvasive monitoring of adrenocortical activity in three deer (Capreolus capreolus) by measuring faecal cortisol metabolites.* Adv. Ethol. 33, 18.
- Graham, L. H., and Brown, J. L. (1996). *Cortisol metabolism in the domestic cat and implications for non-invasive monitoring of adrenocortical function in endangered felids.* Zoo Biol. 15, 71-82.
- Miller, M.W., Hobbs, N. T., and Sousa, M. C. (1991). *Detecting stress responses in Rocky Mountain bighorn sheep (Ovis canadensis canadensis): Reliability of cortisol concentrations in urine and feces.* Can. J. Zool. 69, 15-24.
- Whitten, P. L., Stavisky, R., Aureli, F., and Russell, E. (1997). *Response of fecal cortisol to stress in captive chimpanzees (Pan troglodytes).* Am. J. Primatol. 44, 57-69.
- S. Merino · J. MartoÁ nez · A. Barbosa · A. P. Müller F. de Lope · J. PeÁ rez · F. RodrÁ guez-Cabeiro (1998) *Increase in a heat-shock protein from blood cells in response of nestling house martins (Delichon urbica) to parasitism: an experimental approach.* Oecologia (1998) 116:343-347
- Merino, S., Martínez, J., Pape Moler, A., Sanabria, L., de Lope, F & Rodríguez-Cabeiro, F., *Phytohaemagglutinin injection assay and physiological stress in nestling house martins* *Animal Behaviour*, 1999, 58, 219-222
- Guillén-Salazar, F., Font, E. Sendra, A., (2001) *The presence of visitors does not affect the results of an instrumental enrichment programme for chimpanzees (Pan troglodytes).* Foia Primatol; 72: 345-372