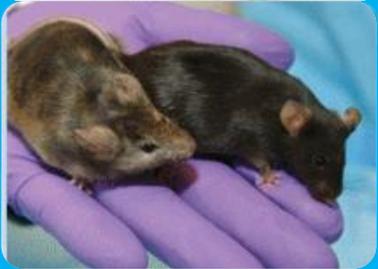




"POR UN DESARROLLO AGRARIO
INTEGRAL Y SOSTENIBLE"

Manejo de bioterio para roedores (*Mus musculus*, *Rattus norvegicus*) y lagomorfos (*Oryctolagus cuniculus*)



Franklin Joel Montenegro Ruiz

Dra. Karla Ríos Reyes

Managua, Nicaragua

2014



Franklin Joel Montenegro Ruiz

Dra. Karla Ríos Reyes

Este trabajo de graduación fue evaluado y aprobado por el honorable tribunal examinador designado por la decanatura de la Facultad de Ciencia Animal (FACA), de la Universidad Nacional Agraria (UNA), como requisito parcial para optar al Título profesional de:

MÉDICO VETERINARIO

En el Grado de Licenciatura

Miembros del tribunal examinador:

Dra. Deleana Vanegas MSc.
Presidente

Lic. Ruth Velia MSc.
Secretaria

Dr. José Luis Soto
Vocal

ÍNDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTO	ii
INDICE DE TABLAS	iii
INDICE DE ESQUEMAS	iv
INDICE DE FIGURAS	v
INTRODUCCION	1
Capítulo I. INFRAESTRUCTURA	3
1.1 Ubicación	4
1.2 Instalaciones	4
1.2.1 Salas de animales	5
1.2.1.1 Salas de aislamiento o cuarentena	5
1.2.1.2 Salas de alojamiento	5
1.2.1.3 Salas especiales	6
1.2.2 Instalaciones de servicio y apoyo	6
1.2.3 Área para el personal, las oficinas y la recepción	8
1.2.4 Seguridad	8
1.2.5 Normas de construcción para las salas de animales	8
1.2.5.1 Pisos y desagües	8
1.2.5.2 Paredes y techos	9
1.2.5.3 Puertas	9
1.2.5.4 Ventanas	10
1.2.5.5 Corredores	10
1.3 Materiales y Equipos	11
1.3.1 Material de laboratorio	11
1.3.2 Servicios Mecánicos	12
1.3.3 Jaulas	12
1.3.3.1 Jaulas rectangulares	12
1.3.3.2 Jaula metabólica	13
1.3.3.3 Jaulas más grandes de fondo entero	13
1.3.3.4 Jaulas suspendidas	13
1.3.3.5 Otras jaulas	14
1.3.3.6 Material de lecho y nido	14
1.3.3.7 Complementos de la Jaula	14
1.3.4 Materiales según el tipo de residuos biológicos	19
1.4 Capacidad Instalada	20

Capítulo II. BIOSEGURIDAD	23
2.1 Bioseguridad	24
2.2 Normas de bioseguridad del Bioterio	24
2.2.1 Bioseguridad en ambientes de trabajo con riesgo biológico	24
2.2.2 Niveles de Bioseguridad	25
2.2.2.1 Nivel de bioseguridad 1 (Básico)	25
2.2.2.2 Nivel de bioseguridad 2 (Básico)	27
2.2.2.3 Nivel de bioseguridad 3 (Contención)	31
2.2.2.4 Nivel de bioseguridad 4 (Máxima Contención)	34
2.3 Bioseguridad del Personal Encargado	38
2.3.1 Vestimenta indispensable dentro del bioterio	40
2.3.2 Reglamento que se debe cumplir en el bioterio	40
2.4 Bioseguridad de los animales de laboratorio	41
2.4.1 Barreras Sanitarias	41
2.4.1.1 Tipos de Barreras	42
2.4.2 Clasificación y características de las barreras	42
2.4.3 Barreras Para el Ingreso de Animales (Cuarentena)	43
Capítulo III. SELECCIÓN DE ANIMALES DE LABORATORIO	47
3.1 Características generales de los animales de laboratorio	48
3.1.1 Roedores	48
3.1.1.1 Ratón	48
3.1.1.2 Rata	48
3.1.2 Lagomorfos	49
3.1.2.1 Conejos	49
3.2 Genética y reproducción	51
3.2.1 Control Genético	52
3.3 Ambiente	52
3.3.1 Microambiente	53
3.3.1.1 Caja o Jaula	53
3.3.1.2 Recomendaciones de espacio (densidad animal)	54
3.3.1.3 Lecho o cama	54
3.3.1.4 Agua de Bebida	55
3.3.1.5 Alimento: dietas y requerimientos	55
3.3.2 Macroambiente	56
3.3.2.1 Temperatura	57
3.3.2.2 Humedad Relativa	57
3.3.2.3 Ventilación	57
3.3.2.4 Iluminación	58
3.3.2.5 Ruido	58

3.3.2.6 Olor	59
3.3.2.7 Productos Químicos	59
3.4 Principio de las Tres R's como expresión de virtudes y valores	60
3.4.1 Reemplazo	60
3.4.2 Reducción	60
3.4.3 Refinamiento	61
 Capítulo IV. MANEJO DEL BIOTERIO	 63
4.1 Responsabilidades del personal encargado	64
4.1.1 Personal	64
4.1.1.1. Administrativo	64
4.1.1.2. Operativo	65
4.2 Bienestar animal	66
4.2.1 Medidas que contribuyen el bienestar	67
4.2.2 Estatuto moral de los animales	68
4.2.3 Ética en la Experimentación Animal	68
4.2.4 Normas Jurídicas de Nicaragua	69
4.2.5 Principios éticos internacionales para investigación biomédica con animales	71
4.2.6 Categorización de molestias o malestar inducido durante la fase de investigación	72
4.2.6.1 Categorización de la invasividad	73
4.2.7 Eutanasia	73
4.3 Alimentación y Abastecimiento de agua	74
4.3.1 Alimentación	75
4.3.1.1 Control Nutricional	75
4.3.2 Agua	78
4.4 Cría y Reproducción	80
4.4.1 Métodos de Apareamiento	80
4.4.2 Etapas de apareamiento	80
4.4.3 Ratones	84
4.4.4 Ratas	85
4.4.5 Conejos	85
4.5 Control sanitario e higiene	86
4.5.1 Limpieza y Desinfección	87
4.5.1.1 Encierros Primarios	88
4.5.1.2 Encierros Secundarios	90
4.5.2 Procedimientos de Saneamiento	90
4.5.3 Control de Plagas	92
4.5.4 Evaluación de la efectividad Sanitaria	93
4.5.5 Medicina Preventiva	93
4.5.6 Vigilancia, diagnóstico y control de enfermedades	94

Capítulo V. SERVICIOS QUE BRINDA UN BIOTERIO	97
5.1 Colaboración y uso de los servicios del bioterio	99
5.2 Académico	99
5.2.1 Prácticas de asignaturas de la carrera de Medicina Veterinaria	99
5.3 Investigaciones	100
5.3.1 Ratones	101
5.3.2 Ratas	102
5.3.3 Conejos	102
5.4 Manipulación de los animales del bioterio	103
5.4.1 Técnica de restricción física	103
5.4.1.1 Transferencia de jaulas	104
5.4.1.2 Sujeción del animal	104
5.4.1.3 Contención manual del ratón	105
5.4.1.4 Contención manual para ratas	106
5.4.1.5 Contención del conejo	108
5.4.1.6 Dispositivos de inmovilización	109
5.5 Administración de sustancias	109
5.5.1 Tracto gastrointestinal	109
5.5.2 Parenteral	110
5.6 Toma de muestras	115
5.6.1 Colecta de sangre no terminal	115
5.6.1.1 Sangrado retro-orbital	116
5.6.1.2 Mandibular (vena facial)	117
5.6.1.3 Vena safena	118
5.6.1.4 Vena de la cola	118
5.6.1.5 Vena yugular	119
5.6.1.6 Vena marginal de la oreja (Conejo)	119
5.6.2 Colecta de sangre terminal con anestesia profunda	120
5.6.2.1 Punción cardiaca	120
5.6.2.2 Aorta abdominal	121
5.7 Volumen de sangre a extraer	123
5.8 Muestras de material fecal	124
5.9 Hisopados	125
GLOSARIO	126
LITERATURA CITADA	137

DEDICATORIA

Primeramente a Dios que fue el que me dio la fortaleza y conocimiento para la culminación de mi trabajo, brindándome aliento de vida en cada minuto que pasa.

A mis padres que fueron los que hicieron posible que llegase hasta donde estoy y que sin ellos, no hubiese podido dar este paso tan importante en mi vida, por enseñarme que los obstáculos y problemas son para resolverse y superarlos

A mis hermanos que instaron a que siguiera adelante, que han compartido hasta ahora a mi lado cada uno de mis logros y fracasos, siendo los testigos de este duro camino que por fin concluí para abrirme otros, así retomando nuevamente un compromiso con otro tipo de satisfacciones.

Franklin Joel Montenegro Ruiz

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios todo poderoso por brindarme la oportunidad de culminar mis estudios, lleno de salud, sabiduría, inteligencia. Por permitirme llegar a este logro en mi vida como es el culminar mi carrera. Estableciéndose como un peldaño alcanzado hacia mí meta final.

A mis padres Francisco Montenegro y Martha Ruiz que sin su apoyo no hubiese sido posible alcanzar este logro, por todos sus esfuerzos, gracias por educarme y formarme no solo como un profesional, sino como una persona responsable y con altos valores morales que me han servido y que me han hecho cada vez más integro.

A mi esposa Francis Castillo, con quien he compartido alegrías y esperanza en mi vida, que me ha apoyado en las buenas y las malas, a pesar de todos los errores vividos no nos hemos dejado vencer. Así también por lo más hermoso que Dios me ha dado, un hijo, hermoso ser, que se está formando en su vientre.

A mis hermanos y hermanas que han sido un ejemplo a seguir en esta lucha sin dar ningún paso hacia atrás, todo con esfuerzo luchando por lo que se quiere sin dejarme vencer por los tropiezos, me han enseñado que la vida es un reto cada día y hay que vivirla.

A mi asesora Dra. Karla Ríos, que con su paciencia y esmero ha confiado en mí, brindándome todo su apoyo, permitiéndome trabajar con ella, que sin su tiempo, orientaciones y consejos no hubiese podido dar paso a la elaboración de este manual, por sus palabras de aliento y confianza.

A los doctores que durante toda la formación profesional, fueron de ejemplo para seguir adelante, admirándoles por su dedicación y desempeño como formadores de futuros profesionales.

Amigos que fueron parte de mi formación profesional, que durante el tiempo juntos, fueron de apoyo para no dejarme vencer y que seguirán siendo parte de mi vida. Por darme la oportunidad de conocer el verdadero valor de la amistad.

A mis compañeros de generación que completaron y fueron parte de mi aprendizaje durante los 6 años de mi formación académica.

DIOS LES BENDIGA

Franklin Joel Montenegro Ruiz

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Envasado a utilizar según los tipos de residuos	19
Tabla 2. Dimensiones del área según el peso de los ratones	20
Tabla 3. Espacio mínimo para ratas de laboratorio mantenidos en jaulas o cajas	20
Tabla 4. Espacio recomendado para lagomorfos	21
Tabla 5. Espacio propuesto para alojamiento ordinario de animales de laboratorio	21
Tabla 6. Alojamiento y medio ambiente	22
Tabla 7. Nivel de Contención de los animalarios	25
Tabla 8. Señalizaciones	44
Tabla 9. Especies utilizadas en experimentación biomédica	50
Tabla 10. Características Generales de los animales de laboratorio	51
Tabla 11. Categorización de molestias durante la fase de investigación	72
Tabla 12. Categorización de la invasividad	73
Tabla 13. Aplicación de los agentes y métodos de eutanasia por especie	73
Tabla 14. Agentes y método de eutanasia prohibidos	74
Tabla 15. Parámetros fisiológicos y nutricionales	79
Tabla 16. Datos sobre crianza y reproducción	86
Tabla 17. Ruta de aplicación y volumen	115
Tabla 18. Ventajas y Desventajas de los sitios de extracción de sangre	122
Tabla 19. Volumen de sangre circulatoria en Animales	123
Tabla 20. Volúmenes límites y período de recuperación	123
Tabla 21. Volumen total de sangre y máximo volumen de sangre que puede extraerse	124
Tabla 22. Sitios recomendados para muestreos sanguíneos repetidos	124

INDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1. Barreras simple	42
Esquema 2. Barreras sofisticadas	43
Esquema 3. Criterios deseables para la cama de contacto de los roedores	55
Esquema 4. Composición química de una dieta estándar	56
Esquema 5. Dieta de cría y mantenimiento para la rata de laboratorio	76
Esquema 6. Requerimiento estimado de vitaminas para ratas	77
Esquema 7. Requerimiento estimado de minerales para ratas	78
Esquema 8. Agentes químicos para inactivar los agentes biológicos	92
Esquema 9. Agentes físicos para inactivar los agentes biológicos	92

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Bioterio con dos corredores (limpio y sucio)	10
Figura 2. Jaulas rectangulares rata-ratón con tapa de alambre	12
Figura 3. Jaulas metabólicas	13
Figura 4. Jaulas para Conejos	13
Figura 5. Utilización de algodón para la construcción de nidos para ratones	15
Figura 6. Crías de ratones en el nido	15
Figura 7. Papel toalla en las jaulas de ratas	15
Figura 8. Enriquecimiento del nido con papel toalla	15
Figura 9. Mascara descartable como camas	16
Figura 10. Ratones utilizando mascara como camas	16
Figura 11. Papel triturado para el nido de las camas	16
Figura 12. Jingle Ball para conejos	16
Figura 13. Rata en tubería PVC	17
Figura 14. Rata con sus gazapos en tubo PVC	17
Figura 15. Cabañas para ratones	17
Figura 16. Refugios artificiales para roedores	18
Figura 17. Iglú para ratones	18
Figura 18. Ratones dentro de Iglú	18
Figura 19. Rabbit Hut (Refugio para conejos)	18
Figura 20. Nivel de bioseguridad 1 (Básico)	27
Figura 21. Recipiente para instrumentos punzo-cortantes	28
Figura 22. Riesgo laboral en bioterio	28
Figura 23. Manipulación inadecuada de jeringas utilizadas	29
Figura 24. Apropiada manera de colocar tapa a jeringas usadas	29
Figura 25. Símbolo de Riesgo Biológico	29
Figura 26. Nivel de bioseguridad 2 (Básico)	31
Figura 27. Protección completa de personal	32
Figura 28. Nivel de Bioseguridad 3 (Contención)	34
Figura 29. Nivel de Bioseguridad 4 (Máxima Contención)	38
Figura 30. Lavado de manos	39
Figura 31. Vestimenta para salas de experimentación	40
Figura 32. Extracción en zonas bajas de ventiladores	58
Figura 33. Visualización de tapón vaginal como evidencia de apareamiento	82
Figura 34. Caracteres físicos de la preñez en una hembra con quince días de gestación	82
Figura 35. Verificación de edades embrionarias	83
Figura 36. Perfil de desenvolvimiento de roedores	83
Figura 37. Diferenciación de sexo en roedores de diferentes categorías	84
Figura 38. Limpieza y desinfección	87
Figura 39. Lavado, desinfección y esterilización de jaulas	89

Figura 40. Higienización del ambiente	91
Figura 41. Manejo de roedores para cambio de jaula	104
Figura 42. Manipulación de ratones para el intercambio de jaula	104
Figura 43. Tomando la piel de la parte superior	105
Figura 44. Sujeción con una mano en ratones	105
Figura 45. Sujeción en ratas	106
Figura 46. Sujeción de la rata. Agarrándola alrededor del tórax	106
Figura 47. Contención de la rata tomándola sobre la espalda	106
Figura 48, 49, 50, 51 y 52. Método de “Rata Wrap”	106
Figura 53. Contención que involucra los dedos por debajo de las patas delanteras	107
Figura 54. Contención manual, tirando de toda la piel en la parte posterior	108
Figura 55. Contención en conejos	108
Figura 56. Contención manual para transportar al conejo	108
Figura 57. Técnica de contención para procedimientos de colecta e inoculación	109
Figura 58. Técnica de contención en jaula de plástico para conejos	109
Figura 59. Contención artificial para ratones	109
Figura 60. Contención artificial para ratas	109
Figura 61. Sonda orogástrica	110
Figura 62. Inoculación en cola de ratón	111
Figura 63. Inoculación endovenosa caudal en rata	111
Figura 64. Ubicación de la arteria caudal	111
Figura 65. Cuadrante izquierdo sitio ideal para inoculación	111
Figura 66. Inoculación intraperitoneal en ratas	112
Figura 67. Inoculación Intraperitoneal en ratones	112
Figura 68 y 69. Inoculación Intradérmica y burbuja en punto de aplicación	112
Figura 70. Inoculación en la región del cuello	113
Figura 71. Inoculación en la región del flanco	113
Figura 72. Inoculación Intranasal	113
Figura 73 y 74. Inoculación Intramuscular	115
Figura 75. Anestésico oftálmico	117
Figura 76. Extracción de sangre retro-orbital	117
Figura 77. Punción por detrás del masetero	118
Figura 78. Colecta de sangre en la vena facial de roedores	118
Figura 79. Localización del lado de la vena safena	118
Figura 80 y 81. Colecta de sangre en vena caudal	119
Figura 82. Extracción de muestra de la oreja	120
Figura 83. Extracción cardiaca	121
Figura 84. Punción cardiaca	121
Figura 85. Localización del corazón	121
Figura 86. Punción de aorta abdominal	122

INTRODUCCIÓN

Nicaragua cuenta con tres bioterios ubicados en: UNAN – Managua, UNAN – León y el MINSA (Ministerio de Salud), estos son lugares especializados donde se lleva a cabo la reproducción y mantenimiento de los animales de laboratorio. Es importante señalar que el modelo animal a utilizar dependerá de la investigación, es decir, que los bioterios serán acondicionados para alojar a la especie animal que el objeto de estudio demande (Arch *et al*, 2004).

La experimentación animal es hoy una actividad básica de la ciencia médica. A ella se oponen los movimientos pro derechos animales, normalmente fundados en una visión meramente natural del hombre y los animales, que los iguala. De estos fundamentos se derivan una serie de normas éticas sobre el trato correcto de los animales de experimentación. Estas normas han sido recogidas también en leyes específicas sobre el bienestar animal (Boada *et al*, 2011).

Los estudios realizados en animales han contribuido al conocimiento científico para mejorar la calidad de vida, tanto de los humanos como de los mismos animales, permitiendo prevenir y curar las diferentes enfermedades y trastornos, como también el dolor o el sufrimiento causado por éstas. Los grandes descubrimientos biomédicos y los constantes avances científicos que se han realizado en por lo menos 100 años, han dependido de la investigación en animales de laboratorio (UAMUX, 2004).

Los bioterios son un recurso de vital importancia para realizar investigaciones que permitan validar la eficacia de tratamientos alternativos que garanticen no sólo la salud del animal, sino también su aplicación al nivel humano, teniendo en cuenta evitar la acumulación de residuos químicos que provocan los fármacos que repercuten a largo y corto plazo sobre la salud y bienestar del animal.

Los bioterios son un fundamento de gran valor para el país, ya que en estos se realizan investigaciones y estudios, que permiten controlar brotes de enfermedades, como es el caso del dengue, malaria, *Leptospira*, entre otros; para esto se necesita dar un seguimiento adecuado del manejo empleado en los individuos de experimentación, garantizándoles el hogar perfecto para la crianza y desarrollo de los mismos.

El bienestar animal en los bioterios debe ser concebido como un norma *sine qua nom*, en virtud del cual se realice la toma de decisión apropiada sobre el ambiente que debe mantenerse en un bioterio, y si existe un beneficios por cada servicio brindado, de tal forma que se encuentre estipulado en un manual que garantice la seguridad tanto del personal encargado, como del personal. De tal forma que el presente documento sea una guía para los diferentes interesados en esta materia.



CAP. I



INFRAESTRUCTURA

1.1 Ubicación

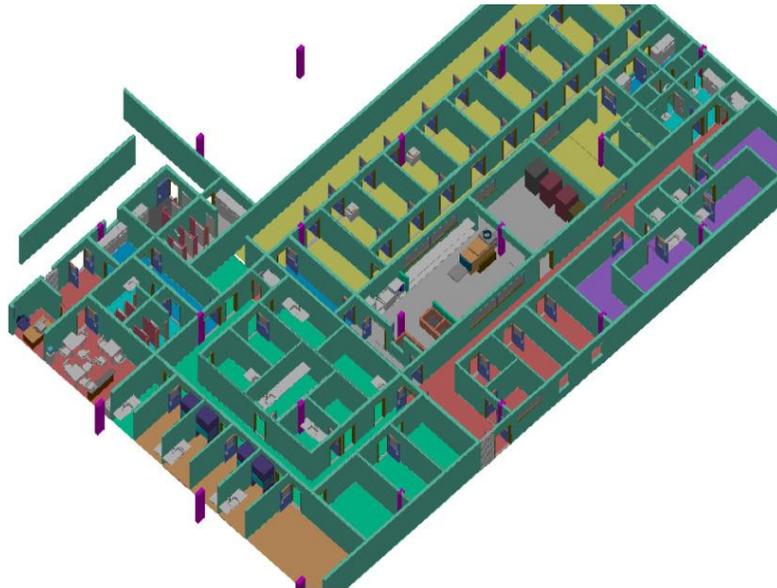
1.2 Instalaciones

- 1.2.1 Salas de animales
 - 1.2.1.1 Salas de aislamiento o cuarentena
 - 1.2.1.2 Salas de alojamiento
 - 1.2.1.3 Salas especiales
- 1.2.2 Instalaciones de servicio y apoyo
- 1.2.3 Área para el personal, las oficinas y la recepción
- 1.2.4 Seguridad
- 1.2.5 Normas de construcción para las salas de animales
 - 1.2.5.1 Pisos y desagüados
 - 1.2.5.2 Paredes y techos
 - 1.2.5.3 Puertas
 - 1.2.5.4 Ventanas
 - 1.2.5.5 Corredores

1.3 Materiales y Equipos

- 1.3.1 Material de laboratorio
- 1.3.2 Servicios Mecánicos
- 1.3.3 Jaulas
 - 1.3.3.1 Jaulas rectangulares
 - 1.3.3.2 Jaula metabólica
 - 1.3.3.3 Jaulas más grandes de fondo entero
 - 1.3.3.4 Jaulas suspendidas
 - 1.3.3.5 Otras jaulas
 - 1.3.3.6 Material de lecho y nido
 - 1.3.3.7 Complementos de la Jaula
- 1.3.4 Materiales según el tipo de residuos biológicos

1.4 Capacidad Instalada



Fuente: Neves *et al*, 2013



En los libros se encuentran distintas denominaciones, entre las más usadas se cuentan las de Bioterios, Estancieros y Animalarios, con idéntica significación. El primero es generalmente utilizado en Sudamérica y Brasil y el último en la mayor parte de los países de Europa (Sáiz *et al*, 1983).

1.1 Ubicación

Los bioterios deben estar ubicados fuera del alcance de peligros sanitarios (separación de instalaciones de diferente grado sanitario, alejamiento de lugares frecuentados por animales salvajes o personas enfermas, etc.) y utilización de sistemas y materiales de construcción que eviten el alojamiento de plagas y faciliten los procesos de sanitización (Cardozo *et al*, 2007).

Lugares donde haya un mínimo de acceso del público o de circulación de personal, y un mínimo de movimiento de animales, jaulas, basura, etc., en los corredores de uso común. Los bioterios deberían ser fácilmente accesibles, por los usuarios de los animales, pero siendo seguros. Es deseable que haya un acceso directo exterior, para recoger las entregas de insumos y para la eliminación de basura (Vega, 2002).

Los bioterios ubicados en pisos más altos deberían ser accesibles por lo menos con dos ascensores, uno para materiales limpios y otro para materiales sucios, a menos que se tomen medidas apropiadas para limpiar y desinfectar un ascensor único siguiendo el transporte de materiales sucios.

Para los bioterios muy pequeños o satélites, pueden ser aceptables, precauciones alternativas para minimizar la contaminación (CCPA, 1998).

Las áreas destinadas al alojamiento animal deben ubicarse en forma independiente a las de ocupación humana, con el fin de asegurar una operación higiénica y favorecer la salud y el confort de ambos (Millán, 2007).

1.2 Instalaciones

Las instalaciones y el equipamiento relacionado con las medidas de seguridad laboral variarán de acuerdo con las características propias de cada institución, con el tipo de animales mantenidos y utilizados y con los proyectos específicos de investigación desarrollados (Ochoa, 2001).

El diseño de las instalaciones para animales y las condiciones en que se mantengan estas determinan en gran parte la eficacia y economía de su funcionamiento, e influyen mucho en las normas para el cuidado de animales. Una instalación bien diseñada y debidamente mantenida es un elemento indispensable para el adecuado cuidado de animales (OPS, 1968).

La ubicación de las salas y de los anexos dependerá de las especies, de su uso experimental y de la calidad microbiana (Vega, 2002).



Un Bioterio está obligado legalmente a tener zonas para proveer distintas funciones, contar con equipos especializados y condiciones ambientales muy bien controladas. Las principales áreas para el mantenimiento del animal de laboratorio son las siguientes:

1.2.1 Salas de animales: El espacio mínimo requerido para cada especie está legislado, aunque el determinante último suele ser el económico (Sancho, 2002).

1.2.1.1 Salas de aislamiento o cuarentena: Para recepción de animales hasta determinar su estado sanitario y para alojar a los animales enfermos (Sancho, 2002).

Dentro de la instalación pero separadas del área de acondicionamiento, se pueden requerir salas de cuarentena / aislamiento, para alojar a los animales enfermos o a los animales que vuelven al bioterio después de haber sido utilizados en el laboratorio de un investigador (Vega, 2002).

◆ Área de recepción de los animales

Debe ser ubicada de manera tal que los animales que entren en esta área no tengan que pasar por las áreas de alojamiento de experimentación. De igual manera el material desechado no debería pasar por el área de recepción. Esta área debe tener el espacio suficiente para el desembalaje y el examen inicial de los animales, o para mantenerlos bajo condiciones ambientales apropiadas, hasta que sean ubicados en el área de acondicionamiento o en una de las salas para animales (Vega, 2002).

◆ Cuartos de acondicionamiento

En estos cuartos los animales reciben un examen detallado. Son puestos bajo observación y acondicionados antes de la experimentación. La disponibilidad de cuartos apropiados para acondicionamiento es particularmente importante cuando se adquieren animales de fuentes desconocidas. En algunas circunstancias y cuando el espacio lo permite es posible y hasta deseable ubicar inmediatamente a los animales en cuartos de experimentación, cuando los animales provienen de una misma fuente, evitando así los contactos con otros animales (Vega, 2002).

1.2.1.2 Salas de alojamiento: Deben estar separadas de las salas de experimentación y ser independientes para cada especie (Sancho, 2002).

Vega (2002) indica que deben estar disponibles locales de alojamiento separados para cada especie, según su origen y/o para cada proyecto de un investigador. Consiguientemente es preferible tener varias salas pequeñas que pocas salas grandes. Se pueden hacer excepciones cuando los investigadores utilizan las mismas especies provenientes de la misma fuente, para proyectos de investigación.

El alojamiento se debe limitar a grupos de animales de una misma especie, de compatibles condiciones sociales y de salud. Cuando hay que mezclar varias especies, es posible lograr cierto grado de seguridad por un diseño especial de la sala, por la selección del equipo y/o de las jaulas (Vega, 2002).



Se pueden reducir los riesgos de contaminación, cruzada con el uso de cubículos de aire controlado, de unidades de flujo laminar, portátiles y de varios tipos de jaula de aislamiento. Se deben prever salas especies para el uso de radioisótopos, agentes infecciosos y sustancias altamente tóxicas. También se pueden necesitar de locales para propósitos especiales (Ej: la crianza de colonias, estudios con ambiente controlado, etc.).

Es importante cuando se diseñan las salas de alojamiento, considerar posibles usos futuros de estas instalaciones. Donde el uso de animales ha sido uniforme por varios años, todos los locales se pueden diseñar para el uso de animales, fluctúa considerablemente; por esta razón, la polivalencia es sumamente importante. Una sala de alojamiento polivalente es un local que encuentra los requerimientos aceptables para el alojamiento de especies diferentes (Vega, 2002).

1.2.1.3 Salas especiales: Deben estar previstas zonas para el uso de radioisótopos, agentes infecciosos, para la cría de animales, etc. (Sancho, 2002).

Instalaciones para las manipulaciones y los tratamientos

Las manipulaciones experimentales se deben efectuar en los locales de alojamiento de los animales, a menos que sea necesario según el protocolo experimental o por razones de contención. Instalaciones separadas deben ser disponibles para las cirugías y la eutanasia.

Los bioterios pueden incluir salas para algunas o todas las actividades siguientes: Preparación prequirúrgica, cirugía, cuidados postoperatorios, radiología, necropsia, servicios diagnósticos, preparación de dietas especiales, droguería o farmacia. El diseño y la organización de instalaciones especiales dependerán de cómo sean utilizadas (Vega, 2002).

♦ Laboratorios de experimentación:

Áreas separadas para la preparación prequirúrgica, cirugía, cuidados postoperatorios, necropsias, servicios diagnósticos, toma de muestras, etc. (Sancho, 2002).

1.2.2 Instalaciones de servicio y apoyo

Deben existir instalaciones para:

A). Para vestuario, lavado y esterilización del equipo, el material y el personal

B). Para almacenamiento y eliminación de residuos relacionados con los animales (excrementos, camas, cadáveres) en una cámara fría o congelador. En el exterior los residuos se depositan en recipientes cerrados (Sancho, 2002).

La manipulación de los desechos tóxicos, infecciosos o radiactivos debe cumplir la normativa legal local; para almacén de alimentos, camas y equipo en lugares apropiados a prueba de roedores e insectos (Sancho, 2002).

Sin embargo, aun con instalaciones de poca importancia, siempre se debe prever un área especial, o un local reservado para cirugías menores y/o tratamientos (Vega, 2002).



◆ **Instalaciones de lavado y esterilización**

Deberían ser diseñadas y estar ubicadas donde se provoque menos molestia para los animales, el personal y los servicios vecinos. La ventilación debería ser suficiente para eliminar los olores, el exceso de calor y los vapores del resto de la instalación (Vega, 2002).

Los fregaderos y los lavatorios para la limpieza de manos y de piezas especiales de equipo son muy útiles, así como también los fregaderos profundos y grandes (Vega, 2002).

Se pueden colocar las autoclaves y otros equipos especiales en esta área. Idealmente, el área de lavado debería estar diseñada para separar el material limpio del sucio.

Si el lavado de las jaulas y los estantes de jaulas se hacen por pulverización, se recomienda instalar un sector separado por muros y con agua caliente y fría, además de un distribuidor de desinfectante (Vega, 2002).

◆ **Eliminación de desechos**

Debe proveer espacio para almacenamiento de material relacionado con los animales, excrementos, camas sucias. Los desechos se deben guardar en una heladera o en una cámara fría, reservada para este fin antes de eliminarlos.

Los desechos colocados afuera de las instalaciones se deben mantener en recipientes cerrados herméticamente.

Los bioterios deben cumplir con los reglamentos locales de almacenaje y de eliminación de los desechos. La manipulación de los desechos tóxicos, infecciosos o radioactivos deben cumplir con los reglamentos institucionales y federales (Vega, 2002).

◆ **Conservación de los alimentos**

Se puede conservar pequeñas cantidades de alimento y de cama en las salas de los animales, en recipientes cubiertos apropiadamente. Para minimizar el deterioro y la contaminación de los alimentos, se debe almacenar en cámara frías ($< 15^{\circ}\text{C}$), secas, a prueba de roedores e insectos.

◆ **Almacenaje del equipamiento**

La falta de espacio de almacenaje es una de las deficiencias más frecuentes encontradas en el diseño, no se debe almacenar equipo en los vestíbulos, pasillos o en salas donde se alojan animales. También el equipo limpio debería ser llevado solo cuando sea necesario.

Las áreas reservadas para el equipo limpio deberían estar separadas de las áreas de recepción del sucio.

Es una instalación media, un espacio de almacenaje del 11% (espacio neto) se estima adecuado; en instalaciones donde se manipulan varias especies de animales en condiciones diferentes, este porcentaje deberá ser incrementado hasta un 20% o más (Vega 2002).



1.2.3 Área para el personal, las oficinas y la recepción

Es preferible que estén contiguas, y no dentro de las instalaciones de los animales, se debe prever un espacio suficiente para acomodar a todo el personal administrativo y técnicos.

◆ Instalaciones para el personal

Deben favorecer altas normas de higiene personal, y proveer salas fácilmente accesibles con armarios, duchas, lavaderos e inodoros, donde el personal se puede cambiar. Se debe proveer ropa adecuada para el personal, también salas para descansar, comer y hacer reuniones. Es útil tener un centro de información para el personal.

1.2.4 Seguridad

El acceso a los bioterios debe ser limitado, a fin de asegurar un control constante del ambiente y para minimizar las interferencias, las entradas de los bioterios deben ser mantenidas bajo llave, donde solo el personal autorizado tenga acceso (Vega, 2002).

El diseño de las instalaciones que conforman los animalarios, constituye uno de los factores de mayor interés para asegurar la eficacia y economía de su funcionamiento y consecuentemente de mantener, el adecuado cuidado y vigilancia a los animales que en él se albergan (Sáiz *et al*, 1983).

Las salas más frecuentemente usadas por los investigadores deberían ser ubicadas cerca de la entrada de los bioterios para minimizar la circulación (Vega, 2002).

La naturaleza de la actividad y las necesidades de la institución, definirán las áreas específicas de apoyo a la operación que éstos deben poseer. En general todo bioterio debe contar con sectores básicos, que aseguren el alojamiento animal, la separación física de especies o su aislamiento, la experimentación, así como un sector específico de apoyo a la operación (Millán, 2007).

Se pondrán señales de advertencia del riesgo biológico en las puertas y en otros lugares apropiados, tales como:

- A). “Para su manipulación, use lentes de seguridad, guantes y mascarilla”
- B). “No fume, ni ingiera alimentos ni bebidas en este lugar”
- C). “Entrada restringida sólo personal autorizado”
- D). “Evite hacer ruido y movimientos bruscos” (García, 2009)

1.2.5 Normas de construcción para las salas de animales

1.2.5.1 Pisos y desagüados:

Los pisos deben ser sin ranuras, duraderos, no resbaladizos, estancos al agua y fáciles de limpiar. Deben unirse con las paredes con una curva a fin de eliminar los ángulos agudos. Deben ser inclinados hacia los desagüados y el nivel apropiado de estas pendientes debe considerarse en todas las nuevas construcciones (CCPA, 1998).



El grado mínimo de pendiente para pisos es de 2.1 cm/m. Se debe prestar especial atención para asegurar este componente crítico de la construcción (CCPA, 1998).

Los pisos deben ser de superficie lisa, impermeable y de resistencia satisfactoria, como para permitir durabilidad, facilidad de limpieza y desinfección con sustancias químicas u otro método. Los encuentros de pared-piso deben contar con un zoclo sanitario que evite la anidación de insectos y basura (Ochoa, 2001)

Se recomienda que los desagüaderos estén equipados con un mecanismo de descarga del agua, que permita mantener un sello de agua limpia. Sin embargo, se debe ubicar la descarga de agua en un lugar que no interfiere con la colocación de las jaulas.

Los desagüaderos tendrán una rejilla y una trampa movable para desechos (Vega, 2002).

Los desagüaderos de piso usados para la eliminación de desechos se deben verificar regularmente y cubrir y sellar los que no estén en uso.

No se necesitan los desagüaderos de piso en las salas diseñadas únicamente para alojar especies pequeñas, ya que se pueden usar sistemas de aspiración de agua que permitan sacar los desechos y limpiar con desinfectantes o con productos de limpieza (CCPA, 1998).

1.2.5.2 Paredes y techos

Las paredes de los cuartos de animales deben poseer resistencia e impermeabilidad, sus acabados deben estar libres de juntas imperfectas y oquedades. Los techos deben ser de superficie lisa y carentes de grietas (Ochoa, 2001).

Deben ser construidas con materiales impermeables, sin fisuras, sólidos y fáciles de limpiar y desinfectar (Vega, 2002).

Es fácil reducir el ruido con este tipo de materiales. Por lo que es necesario que las paredes sean tan resistentes como los pisos, con tal de que estén protegidas por cenefas o por topes.

Las aberturas en los techos o en las paredes deben ser juntas sin fisuras, con uniones estancadas en las paredes. En algunos pasillos puede ser conveniente colocar tejar en los techos, a fin de permitir el acceso a los sistemas mecánicos (CCPA, 1998).

1.2.5.3 Puertas

Los cuartos de animales contarán con puertas resistentes y durables y sus características de construcción deben impedir la entrada de fauna nociva (Ochoa, 2001).

Se prefieren las puertas que cierren solas, de metal o cubiertas de metal, con ventanas de observación que se puedan cerrar (Vega, 2002).



Un faldón reemplazable se debe instalar en la parte inferior de las puertas si el espacio excede 0.32 cm. Las dimensiones mínimas recomendadas para las puertas son de 107 cm de ancho y 213 cm de alto, para permitir el libre paso de los equipos (CCPA, 1998).

1.2.5.4 Ventanas

Las ventanas exteriores complican el control de temperatura, debido a la radiación y a la conducción que pueden poner en peligro (Vega, 2002).

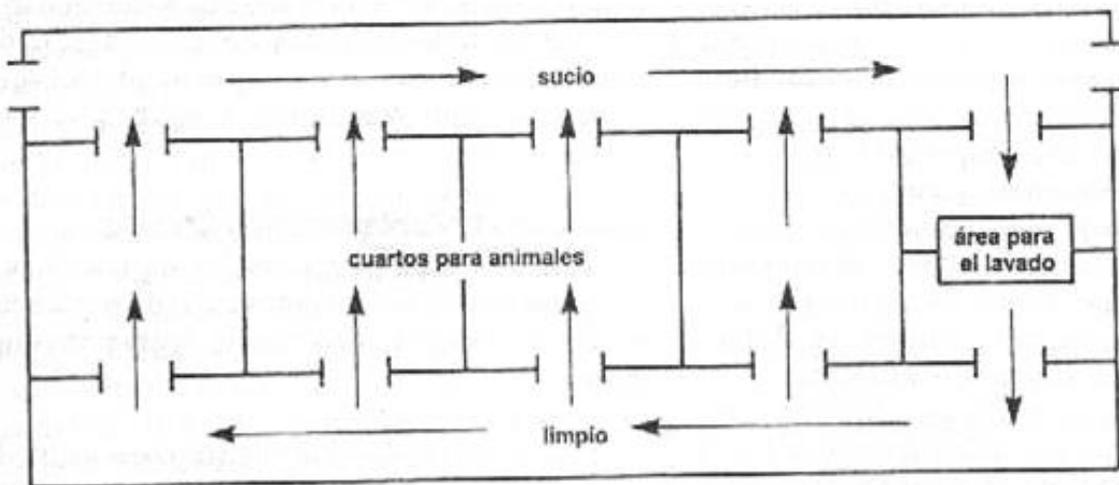
La salud de los animales y los resultados de las investigaciones. También interfieren con el control del fotoperiodo.

Si las ventanas ya están instaladas, se debe diseñar o modificar para minimizar los efectos mencionados y para favorecer al máximo la limpieza (Vega, 2002).

1.2.5.5 Corredores

Hay diferentes tipos de bioterio con respecto a los corredores, uno de estos es de uso medio y muy recomendado, por ejemplo:

Corredores limpio y sucio: Flujo de tráfico en una sola dirección, la entrada conduce desde el corredor limpio al cuarto y la salida del cuarto conduce al pasillo sucio. El flujo de aire tiene diferentes presiones (Genovese, 2012).



B. Plano de Piso con Dos Corredores

Figura 1. Bioterio con dos corredores (limpio y sucio)

Fuente: Lijteroff, 2012



Los pasillos deben comunicar de manera eficiente las diferentes secciones del bioerario. La altura y el ancho deben permitir el paso holgado del equipo (Ochoa, 2001).

En la mayor parte de los casos, los corredores deberán tener más de 2 m de ancho para permitir la libre circulación del personal y el equipo. La junta piso-pared debe ser arqueada a fin de facilitar la limpieza. Hay que tomar precauciones para proteger las paredes contra daños por el equipo mediante rebordes o barandillas o poniendo parachoques en el equipo. Los salientes expuestos deben protegerse reforzándolos con acero u otro material duradero hasta una altura de 1.8 m.

Los corredores de comunicación con áreas ruidosas deben tener doble puerta u otro dispositivo contra el ruido. Siempre que sea posible, el acceso a instalaciones tales como cañerías de agua, tuberías de desagüe y conexiones eléctricas, debe ser provisto mediante cajas de servicio protegidas dispuestas en los pasillos y fuera de los compartimientos para animales (OPS, 1968).

El diseño debería permitir el sentido del lado más limpio a las áreas más sucias (Vega, 2002).

1.3 Materiales y Equipos

Cada área debe contar con materiales de limpieza exclusivos y no deben de ser trasladados a otras, para evitar contaminación entre áreas.

El alimento y la viruta deberán guardarse en recipientes de plástico. Se recomienda utilizar viruta autoclavada (Muñoz, 2009).

Los materiales más convenientes para superficies interiores son los duraderos, impermeables, resistentes al fuego y sin costuras. Las pinturas y barnices deben ser muy resistentes a los disolventes químicos, elementos de limpieza y al fregado, y también a los rociamientos de alta presión y a impactos (OPS, 1968).

1.3.1 Material de laboratorio

Según ICA, 2007:

El uso de material de seguridad junto con los procedimientos y prácticas correctos ayudan a reducir los riesgos cuando se trabaja con agentes biológicos de alto riesgo.

Según ICA, 2007:

El Laboratorio debe contar con:

- ◆ Diseño que permita limitar o evitar los contactos entre el trabajador y el material infeccioso. Construcción con materiales impermeables a los líquidos, resistente a la corrosión y construido bajo las normas de resistencia estructural
- ◆ Carecer de rebabas, bordes cortantes y partes móviles sin proteger y diseñado construido e instalado para su manejo y conservación simples, así como para facilitar la limpieza, la descontaminación y las pruebas de certificación.



1.3.2 Servicios Mecánicos

Los sistemas de calefacción, de aire acondicionado y ventilación de bioterios son generalmente muy sofisticados y costosos. La ubicación de estos debe permitir que su mantenimiento se efectúe con un mínimo de perturbación para los animales. Esto se puede conseguir mediante la colocación de servicios mecánicos en el piso encima del bioterio, para que el mantenimiento no requiera entrar en el bioterio.

En este caso, el acceso a los sistemas mecánicos se debe hacer desde los pasillos, y no desde las salas de animales o de las zonas restringidas tales como las áreas de riesgo biológicos (Vega, 2002).

Cada cuarto de animales debe contar con instalaciones de luz eléctrica y contactos que cumplan con lo dispuesto en la Ley de servicio público de energía eléctrica y su reglamento. En caso de que las instalaciones cuenten con una sala de máquinas, ésta debe estar independiente de las áreas de alojamiento animal, evitando con ello que las vibraciones o ruidos indeseables pudiesen afectar la definición ambiental del bioterio (Ochoa, 2001).

1.3.3 Jaulas

El tamaño de las jaulas elegidas debe ser apropiado para cada especie alojada. Las jaulas no deben solamente permitir guardar los animales de una manera segura, sino asegurar su comodidad, permitiendo ajustes de postura y de comportamiento normales (Vega, 2002).

El diseño de las jaulas debe facilitar su limpieza y su desinfección. La intensidad luminosa percibida por los animales, el nivel de ruido al que están expuestos, la ventilación y la temperatura de su microambiente están afectadas por el material y el diseño de las jaulas.

1.3.3.1 Jaulas rectangulares

Shoe-box (cajas de zapatos), conviene principalmente para la reproducción. Están generalmente hechas de plástico, tal como el policarbonato, el poliestireno y el polipropileno, representándose en la siguiente figura.



Figura 2. Jaulas rectangulares rata-ratón con tapa de alambre

Fuente: BEBS, 2009b

El policarbonato es transparente, resistente al autoclave y a la mayoría de los desinfectantes. El polietileno y el polipropileno no resisten bien las temperaturas elevadas. Las jaulas de polipropileno son traslúcidas y permiten más intimidad para los animales (Vega, 2002).



Sin embargo, no se debe colocar las jaulas opacas sobre estantes arriba del nivel de los ojos, dado que no se pueden observar fácilmente los animales (Vega, 2002).

1.3.3.2 Jaula metabólica

Se usa para el registro individual de la comida y bebida así como la recolección de heces y orina y permite la determinación del balance de nutrientes y la determinación de la influencia de la dieta sobre el crecimiento y la composición corporal, la figura 3 muestra las jaulas (BEBS, 2009b.)



Figura 3. Jaulas metabólicas
Fuente: BEBS, 2009b

1.3.3.3 Jaulas más grandes de fondo entero

Se utilizan con éxito grandes cubetas de plástico para alojar grupos de conejos, deben ser lo suficientemente fuertes para aguantar el peso de los animales que contiene y tener rincones redondeados para facilitar la limpieza y ser resistentes a los desinfectantes (CCPA, 1998).

1.3.3.4 Jaulas suspendidas

Pueden ser provistas con puertas en la parte superior o delantera. La mayoría de las jaulas con apertura en la parte superior utilizan el estante como techo de la jaula. Se usa principalmente para roedores pequeños, mientras que las jaulas con aperturas en la parte delantera se usan más para lagomorfos, mostrándose las jaulas en la imagen (BEBS, 2009b).



Figura 4. Jaulas para Conejos
Fuente: BEBS, 2009b

La mayoría de las jaulas suspendidas tienen un piso de alambrado, de barras de acero de metal perforado, o de plástico, arriba de una bandeja de recolección o un piso entero.

Es importante que el tamaño de las perforaciones del piso sean adecuadas, para las especies. Estas perforaciones deben ser lo suficientemente grandes para permitir que las excretadas pasen a través de ellas, pero suficientemente pequeñas para no producir heridas (Vega, 2002).

El tamaño de las mallas debe soportar el peso del animal sin encorvarse, los pisos deben evitar que se resbalen y permitir que las patas se asienten bien pero los animales no llegan a crear su microambiente, deben estar hechas de acero inoxidable, de fibra de vidrio o de plástico resistente (Vega, 2002).

1.3.3.5 Otras jaulas

Se utilizan de acuerdo a requerimientos específicos, como las jaulas de metabolismo, que cuentan con dispositivos para ejercicio, mecánicas, las comunitarias, las de traslado, las de inmovilización y las jaulas para grupos de animales (Vega, 2002).

1.3.3.6 Material de lecho y nido

Es importante proporcionar un lecho para el bienestar de los animales, debido a varias razones. Satisfacer varias necesidades de comportamiento (todo los roedores de laboratorio pasan bastante tiempo manipulando el lecho y el material de anidamiento y creando túneles o madrigueras si existe suficiente profundidad y consistencia) y permite al individuo que delimite su propio microambiente (SECAL, 1998).

Es fundamental proporcionar material de anidamiento, porque los roedores les motiva mucho utilizarlo, también para regular la temperatura y los niveles de luz (SECAL, 1998).

◆ Material de lecho

Un buen lecho debe constar de: viruta de madera de pequeño calibre, pedacitos de celulosa y tiras de papel filtro.

El serrín no es adecuado, ya que no se maneja bien y las partículas podrían producir problemas prepucciales, oculares y respiratorios (SECAL, 1998).

1.3.3.7 Complementos de la jaula

Existen una amplia variedad de complementos que se pueden introducir (ej: tubos, refugios) en jaulas, los que fomentará la actividad en las áreas centrales e incitará al ejercicio (SECAL, 1998).

La inclusión de diferentes tipos de complementos permite utilizar diferentes áreas para distintos comportamientos, y por tanto, aumentará el abanico de comportamientos que se pueden llevar a cabo. Se ha demostrado que los roedores criados en ambientes enriquecidos (con ruedas, túneles y juguetes) poseen más neuronas en el hipocampo que los correspondientes a camadas criadas en jaulas normales sin ningún tipo de complemento (SECAL, 1998).

Es probable, que estas neuronas de más, contribuyan a aumentar la capacidad de ejecución de tareas de aprendizaje espacial efectuadas por los roedores “enriquecidos” comparados con los controles (Kempermann *et al*, 1997, citado por SECAL, 1998). Es importante evaluar los complementos para asegurarse de que no ocasionan problemas y para valorar el beneficio que aportan (SECAL, 1998).



◆ Enriquecimiento sensorial

Tal vez el enriquecimiento más satisfactorio para los roedores y conejos es la mirada, la comunicación auditiva, olfativa y táctil con sus congéneres o contraespecíficos directamente o por medio de grades (Neves *et al*, 2013).

En táctiles para estimulación es importante proporcionar materiales para la construcción de nidos, porque les permite crear microentornos adecuados para reposos y reproducción.

Los ratones son capaces de modificar el microambiente propio, porque pueden hacerlo acurrucándose y manipulando sus nidos, ejerciendo control sobre la temperatura, la humedad y las condiciones de iluminación (Neves *et al*, 2013).

Entre los materiales para la construcción de nidos libre de toxinas tenemos el algodón, como se muestra en las siguientes figuras.



Figura 5. Utilización de algodón para la construcción de nidos para ratones
Fuente: Neves *et al*, 2013



Figura 6. Crías de ratones en el nido
Fuente: Neves *et al*, 2013

El algodón además de ser un material económico, es fácil de ser cambiado durante la desinfección de las jaulas, no es tóxico, absorbente, puede ser tratado en autoclave y no lastima a los recién nacidos (Neves *et al*, 2013).



Figura 7. Papel toalla en las jaulas de ratas



Figura 8. Enriquecimiento del nido con papel toalla
Fuente: Neves *et al*, 2013

También podemos improvisar camas con máscaras descartables como observamos en las siguientes figuras:



Figura 9. Mascara descartable como camas



Figura 10. Ratones utilizando mascara como camas

Fuente: Neves *et al*, 2013



Figura 11. Papel triturado para el nido de las camas

Fuente: Neves *et al*, 2013

Se ha sugerido que un ruido de fondo constante durante ciertas horas del día (Por ej: un volumen de música de radio 85dB), ofrece ciertos beneficios en el ajuste, la disminución de la excitabilidad de los animales y el efecto de la reducción de alarmas de ruido repentinos, así también un juguete para lograr que el animal se distraiga, como apreciamos en la siguiente figura (Neves *et al*, 2013).



Figura 12. Jingle Ball para conejos

Fuente: Bio Sev, 2014a

La limpieza de las jaula es de rutina en las instalaciones para los animales, sin embargo, la eliminación de las marcas olfativas perturba la jerarquía social de los animales en la jaula, a menudo resulta en un pico de agresividad entre ratones machos (Neves *et al*, 2013).

◆ Refugios y barreras

Los roedores utilizan estructuras como tubos, latas y botellas de agua vacías para esconderse o dormir dentro, y algunas cepas, como letrina. Los tubos de cartón son especialmente versátiles, por cuanto proporcionan ocasión para trepar, roer y manipular (SECAL, 1998).

Existen también indicios de que los roedores buscan cobijo en tubos u otros refugios al intentar capturarlos o cuando se asustan. Por tanto, los tubos estrechos serán muy útiles, ya que permitirán sacarlos de la jaula (SECAL, 1998).

Hay varios tipos de enriquecimiento para los animales de laboratorio que pueden ser improvisados o que se comercializan y permiten el tratamiento en autoclave, como observamos en las figuras.



Figura 13. Rata en tubería PVC
Fuente: Neves *et al*, 2013



Figura 14. Rata con sus gazapos en tubo PVC
Fuente: Neves *et al*, 2013



Figura 15. Cabañas para ratones
Fuente: Neves *et al*, 2013



Figura 16. Refugios artificiales para roedores
Fuente: Neves *et al*, 2013

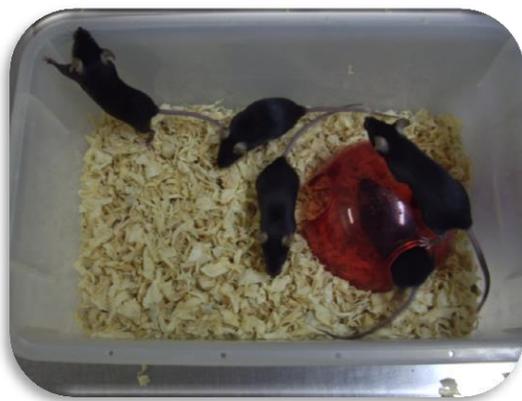


Figura 17. Iglú para ratones
Fuente: Neves *et al*, 2013



Figura 18. Ratones dentro de Iglú
Fuente: Neves *et al*, 2013

Se demostró que las tablas de reposo tenían un efecto relajante en los conejos, que se esconden debajo de las mismas (Anon., 1989a), y se sugirió la adición de tubos como "madrigueras". En la figura 19 apreciamos una refugio para conejos (CCPA, 1998).

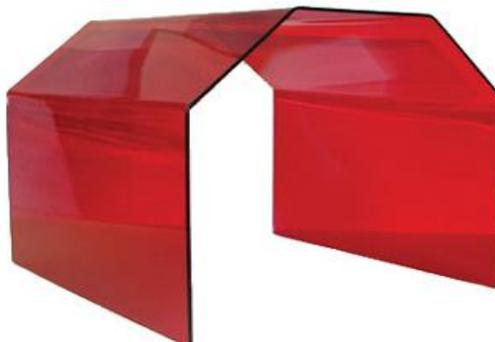


Figura 19. Rabbit Hut (Refugio para conejos)
Fuente: Bio Sev, 2014b

1.3.4 Materiales según el tipo de residuo biológico.

Residuos Peligrosos Biológico Infecciosos (RPBI): Son aquellos materiales generados durante los servicios de atención médica que contengan agentes biológico-infecciosos según son definidos por la Norma-ECOL-087. Según BEBS, 2009c, deben ser envasados, como se muestra en la tabla 1

Tabla 1. Envasado a utilizar según los tipos de residuos

TIPOS DE RESIDUOS	ESTADO FÍSICO	ENVASADO	COLOR	RECIPIENTE
Sangre	Líquidos	Recipientes herméticos	Rojo	
Cultivos y cepas de agentes infecciosos	Sólidos	Bolsas de polietileno	Rojo	
Patológicos	Sólidos	Bolsas de polietileno	Amarillo	
	Líquidos	Recipientes herméticos	Amarillo	
Objetos punzocortantes	Sólidos	Recipientes rígidos de polipropileno	Rojo	
Residuos no anatómicos	Sólidos	Bolsas de polietileno	Rojo	
	Líquidos	Recipientes herméticos	Rojo	
Basura Común	Sólidos	Botes	Negro	

Las bolsas se llenarán únicamente al 80% de su capacidad. Una vez que los RPBI hayan sido depositados en la bolsa ésta debe ser inmediatamente sellada con algún tipo de cinta adhesiva (canela, masking tape, tela adhesiva, cinta adhesiva) (UAMUX, 2004)

1.4 Capacidad Instalada

El tamaño del bioterio debería ser determinado de acuerdo al tamaño de las especies a ser alojadas y los tamaños

variables de estantes y jaulas, permitiendo un mantenimiento y una ventilación adecuados (Vega, 2002).

Los bioterios deben ser diseñados para que sean de mantenimiento fácil, para este fin debe tener un mínimo de equipo permanente.

En muchos casos un fregadero pequeño para lavarse las manos puede ser suficiente (Vega, 2002).

Tabla 2. Dimensiones del área según el peso de los ratones

PESO CORPORAL (g)	SUPERFICIE DEL SUELO POR RATÓN		ALTURA DE LA JAULA	
	pulgadas ²	cm ²	pulgadas	cm
<10	6.0	38.7	5	12.7
10-15	8.0	51.6	5	12.7
15-25	12.0	77.4	5	12.7
>25	15.0	96.8	5	12.7

(Arrebola *et al*, 2010)

Cardozo *et al*, (2007), indica que los ratones con un peso mayor de 25g y ratas con un peso mayor de 500g, pueden requerir más espacio para satisfacer los estándares de rendimiento. Observar tabla 2 y 3.

Tabla 3. Espacio mínimo para ratas de laboratorio mantenidos en jaulas o cajas

ANIMAL	PESO (g)	ÁREA DEL PISO/ANIMAL (cm ²)	ALTURA DEL PISO AL TECHO (cm)
Rata	< 100	110	18
	100-300	187	20
	300-400	258	20
	400-500	387	20
	> 500	452	20

(Ochoa, 2001)



El cuarto estándar recomendado es de una medida definida de 20 m² área del piso efectivo con un máximo de 1000 ratas. Esto está calculado para ratas de 200g de peso en cajas con un área de piso de 810cm². La ventaja de la medida del cuarto es la flexibilidad. Las diferentes especies pueden estar separadas para disminuir el riesgo de infecciones y mientras menos cuartos, menos será el número de ratas por cuarto (Peralta, 2012).

Tabla 4. Espacio recomendado para lagomorfos

ESPECIE	PESO CORPORAL kg	ÁREA DE PISO/ANIMAL	ALTURA ^b cm
Conejo	< 2	0.14	36
	Hasta 4	0.28	36
	Hasta 5.4	0.37	36
	> 5.4 ^c	0.46	36

^b de piso a techo de la jaula

^c los animales más grandes pueden requerir más espacio para lograr los estándares de rendimiento (ILAR, 2008)

Tabla 5. Espacio propuesto para alojamiento ordinario de animales de laboratorio

ESPECIE	PESO	Tipo De Alojamiento	DIMENSIONES TOTALES (cm)			No. DE ANIMALES	ESPACIO POR ANIMAL	
			Ancho	Profundidad	Altura		m ²	m ³
Conejos	2 – 4 kg	Jaula	45	60	40	1 – 2	0.28	0.8
Ratas	150 - 250 g	Jaula individual	20	30	20	1 – 3	0.018-0.065	0.003-0.011
		Jaula colectiva	35	50	20	4 – 10	0.018-0.046	0.003-0.008
Ratones	20 g	Jaula colectiva pequeña	20	30	12	5 – 10	0.009-0.065	0.001-0.006
		Jaula colectiva grande	30	45	12	10 – 20	0.005-0.009	0.0008-0.0016

(OPS, 1968)



Tabla 6. Alojamiento y medio ambiente (CCPA, 1998)

ESPECIES	PESO	ESPACIO POR ANIMAL			A (°C)	B %	C	B.T.U. ANIMAL /HORA
		a	b	c				
Ratón	< 20g	65 cm ²	13 cm	Hembra + camada	22 – 25	50 – 70	8 – 12	0.6
	> 20g	100 cm ²	15 cm	160 cm ²				
Rata	<150g	150 cm ²	18 cm	Hembra + camada	20 – 25	50 – 55	10 – 20	4.0
	>150g	250 cm ²	18 cm	800 cm ²				
Conejos	< 4kg	0.37 m ²	0.40 m	Hembra + camada	16 – 22	40 – 50	10 – 20	30 – 40
	> 4kg	0.46 m ²	0.45 m	0.93 m ²				

^a: Piso Individual

^b: Altura mínima

^c: Alojamiento en Grupo o Libre

A: Temperatura

B: Humedad Relativa

C: Cambios de Aire/Hora



CAP. II



BIOSEGURIDAD

2.1 Bioseguridad

2.2 Normas de bioseguridad del Bioterio

2.2.1 Bioseguridad en ambientes de trabajo con riesgo biológico

2.2.2 Niveles de Bioseguridad

2.2.2.1 Nivel de bioseguridad 1 (Básico)

2.2.2.2 Nivel de bioseguridad 2 (Básico)

2.2.2.3 Nivel de bioseguridad 3

(Contención)

2.2.2.4 Nivel de bioseguridad 4 (Máxima Contención)

2.3 Bioseguridad del Personal Encargado

2.3.1 Vestimenta indispensable dentro del bioterio

2.3.2 Reglamento que se debe cumplir en el bioterio

2.4 Bioseguridad de los animales de laboratorio

2.4.1 Barreras Sanitarias

2.4.1.1 Tipos de Barreras

2.4.2 Clasificación y características de las barreras

2.4.3 Barreras Para el Ingreso de Animales (Cuarentena)

2.5 Señalizaciones



Fuente: Majerowicz, 2013a

2.1 Bioseguridad

“Conjunto de medidas preventivas destinadas a mantener el control de factores de riesgo laborales procedentes de agentes biológicos, físicos o químicos, logrando la prevención de impactos nocivos, asegurando que el desarrollo o producto final de dichos procedimientos no atenten contra la salud y seguridad de trabajadores de la salud, pacientes, visitantes y el medio ambiente” (Bernal, 2005)

La Bioseguridad se debe entender como una doctrina de comportamiento encaminada a lograr actitudes y conductas que disminuyan el riesgo del personal del laboratorio durante el desempeño de sus actividades, así como de todas aquellas otras personas que de alguna manera entren en contacto con el ambiente de laboratorio (Membreño y Rosa, 2009).

2.2 Normas de bioseguridad del Bioterio

Las normas básicas de seguridad son un conjunto de medidas destinadas a proteger la salud de todos, prevenir accidentes y promover el cuidado del material. Son un conjunto de prácticas de sentido común: el elemento clave es la actitud responsable y la concientización de todos (Álvarez y Peratta, Sf).

Los riesgos biológicos en los bioterios existen porque los animales son reservorios naturales de varias zoonosis y pueden, por lo tanto, hospedar o ser susceptibles a diversos agentes infecciosos capaces de causar enfermedades en el ser humano.

Son también productores de alérgenos y que dependiendo de la sensibilidad individual de la persona pueden desencadenar en el desarrollo de una reacción de hipersensibilidad, causando problemas alérgicos de baja gravedad hasta enfermedades respiratorias graves (Majerowicz, 2013a).

Los laboratorios conforman ambientes de trabajo especiales, que pueden presentar riesgos químicos, físicos o biológicos. Por lo que debe considerarse indispensable el cumplimiento de las Normas de Bioseguridad (Membreño y Rosa, 2009).

Para ello es necesario establecer e implementar procedimientos estándares generales y particulares para cada laboratorio, disponer de equipo de bioseguridad y establecer el diseño de instalaciones de laboratorio que den suficientes garantías para realizar un trabajo seguro y con la calidad requerida (Membreño y Rosa, 2009).

2.2.1 Bioseguridad en ambientes de trabajo con riesgo biológico

Al igual que los laboratorios, los bioterios pueden clasificarse en cuatro niveles de bioseguridad, con arreglo a una evaluación del riesgo y al grupo de riesgo al que pertenecen los microorganismos investigados (Lijteroff, 2012).

Lijteroff, 2012, publicó los niveles de bioseguridad reflejados en la tabla 7.



Tabla 7. Nivel de Contención de los animalarios

PROCEDIMIENTOS DE LABORATORIO Y EQUIPO DE SEGURIDAD	
1	Acceso restringido, ropa y guantes protectores
2	Procedimientos del NBSA-1, más señales de advertencia del riesgo. CSB de clase I o II para las actividades que producen aerosoles. Descontaminación de desechos y jaulas antes del lavado.
3	Procedimientos del NBSA-2, más acceso controlado. CSB y ropa protectora especial para todas las actividades.
4	Procedimientos del NBSA-3, más acceso estrictamente restringido. Muda de ropa antes de entrar. CSB de clase III o trajes de presión positiva. Ducha a la salida. Descontaminación de todos los desechos antes de su salida de las instalaciones.

NBSA: nivel de bioseguridad de las instalaciones para los animales

CSB: cámaras de seguridad biológica (Lijteroff, 2012).

2.2.2 Niveles de Bioseguridad

De acuerdo con el nivel de riesgo, el tipo de laboratorio, la barrera de contención requerida, los procedimientos y técnicas a usar, se han establecido los siguientes niveles de Bioseguridad (CONICYT, 2008).

Para todos los niveles de bioseguridad, estará prohibido comer, beber, fumar y almacenar alimentos de consumo humano dentro de los locales destinados a los animales. Se adoptarán procedimientos de trabajo, que impidan o minimicen la generación de aerosoles (Alonso *et al*, 1998).

2.2.2.1 Nivel de bioseguridad 1 (Básico)

Este nivel es el apropiado para mantener a la mayoría de los animales después de la cuarentena y para los animales que son inoculados deliberadamente con agentes del grupo de riesgo 1. Se necesitan técnicas microbiológicas apropiadas (OMS, 2005).

Los microorganismos de riesgo 1 (riesgo individual y comunitario escaso o nulo). Son microorganismos que tienen pocas probabilidades de provocar enfermedades en el ser humano o los animales (García *et al*, 2012).

Entre estos microorganismos encontramos el *Bacillus subtilis* (Bernal, 2005).



El director del animalario debe determinar las políticas, procedimientos y protocolos para todas las operaciones, así como para el acceso al animalario. Se instituirá un programa apropiado de vigilancia médica para el personal y se preparará y adoptará un manual de seguridad de las operaciones (OMS, 2005).

◆ **Recomendaciones Generales del Nivel 1**

Las puertas de acceso a la pieza de los animales, que se abrirán hacia adentro, tendrán cada una un sistema de cierre automático y deberán permanecer cerradas cuando los animales de experimentación estén en ellas (CONICYT, 2008).

La superficie de trabajo deberá descontaminarse antes y después de utilizar material viable.

El personal deberá lavarse las manos después de trabajar con los cultivos y los animales y antes de abandonar la sala de inoculaciones. (CONICYT, 2008).

◆ **Prácticas Especiales**

Retirar la cama de las cajas con el máximo cuidado para evitar la formación de aerosoles. Las cajas serán lavadas manualmente o con máquina. La temperatura final del agua de enjuague deberá ser de 82.2 °C (CONICYT, 2008).

La ropa de trabajo tal como guardapolvos, batas o gorros, se deberá guardar en una pieza especial. El personal se vestirá con las mismas antes de entrar en las salas de inoculaciones. Es recomendable utilizar estas ropas dentro del área de trabajo y no en otras (CONICYT, 2008).

En este nivel no se requiere de equipo de seguridad, ya que los agentes clasificados en esta categoría no son patógenos (Majerowicz, 2013b).

◆ **Instalaciones para los animales**

Las jaulas, cajas, estanterías e instalaciones en general, deben construirse con materiales apropiados y estar concebidos de manera que no presenten ningún riesgo para el animal y puedan desinfectarse fácilmente (Alonso *et al*, 1998).

Se deberá poseer lavatorios para el lavado de manos y se ha de prever una instalación para el lavado de jaulas (Alonso *et al*, 1998).

Cuando sea necesario que las ventanas de las salas permanezcan abiertas, éstas deberán estar resguardadas con una tela metálica (CONICYT, 2008).

Es recomendable que la dirección del flujo de aire sea interna, y que el proceso para eliminar el aire se realice sin que haya recirculación dentro de las habitaciones (CONICYT, 2008).



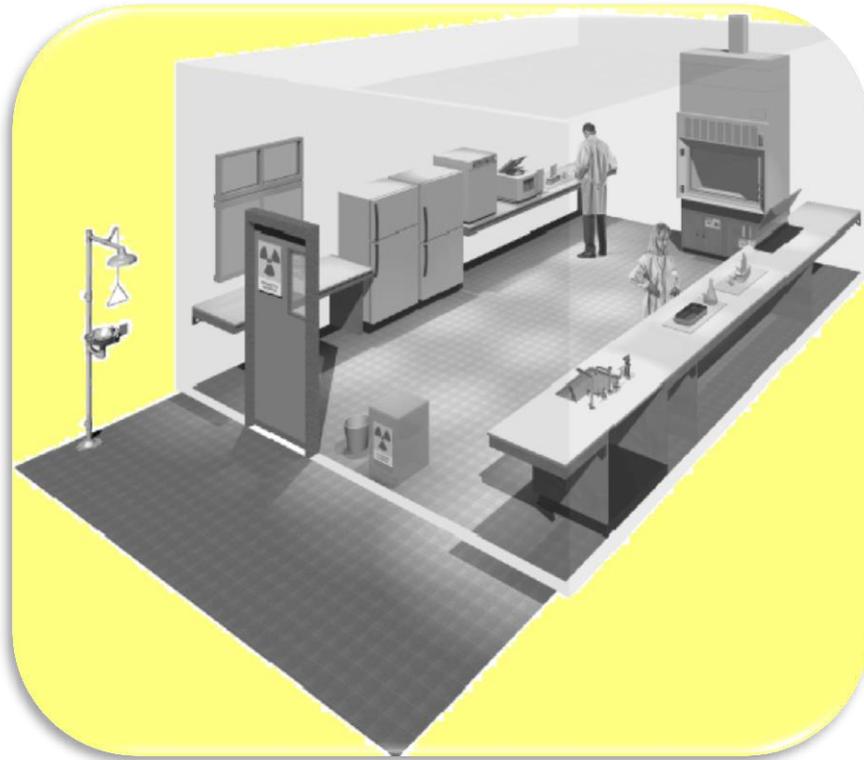


Figura 20. Nivel de bioseguridad 1 (Básico)

Fuente: Bernal, 2005

2.2.2.2 Nivel de bioseguridad 2 (Básico)

Este nivel es adecuado para el alojamiento de animales deliberadamente infectados por microorganismos clasificados dentro del grupo de riesgo 2 (García *et al*, 2012).

Los microorganismos de riesgo 2 (riesgo individual moderado, riesgo comunitario bajo) son agentes patógenos que pueden ocasionar enfermedades humanas o animales pero que tienen pocas probabilidades de entrañar un riesgo serio para el personal, la comunidad, los animales o el medio ambiente (García *et al*, 2012).

La exposición puede producir una enfermedad seria, pero existe tratamiento efectivo y las medidas preventivas están disponibles y el riesgo de dispersión de la enfermedad es limitado. Entre estas tenemos *Leptospira*, TBC (Tuberculosis), *Salmonella*, *Histoplasma*, *Toxoplasma*, Hepatitis, HIV (Virus de la inmunodeficiencia humana) Bernal, 2005.

Para descontaminar el material infeccioso, se debe instalar una autoclave en el edificio donde se encuentran los animales inoculados (OMS, 2005).

◆ Recomendaciones Generales del Nivel 2

Se cumplirán todos los requisitos de los animalarios del nivel 1.

No se admitirá ningún animal distinto de los utilizados con fines experimentales (OMS, 2005).

El bioterio, al igual que cualquier laboratorio de investigación biomédica, deberá desarrollar e implementar un plan de control de plagas para eliminar roedores y artrópodos (García *et al*, 2012).

Las superficies de trabajo habrán de ser descontaminadas con desinfectantes eficaces después del trabajo.

El material de los lechos de los animales se eliminará de modo que se reduzca al mínimo la producción de aerosoles y polvo. Todos los materiales de desecho y de los lechos deben descontaminarse antes de ser eliminados (Bernal, 2005).

Se restringirá en lo posible el uso de instrumentos punzantes o cortantes. Éstos se recogerán siempre en recipientes resistentes y a prueba de perforación, provistos de tapa, y serán tratados como material infeccioso, como observamos en la figura 21 (Bernal, 2005).



Figura 21. Recipiente para instrumentos punzo-cortantes

Fuente: Bernal, 2005

Todas las lesiones, por leves que sean, deberán ser tratadas de forma apropiada, notificadas y registradas, como se refleja en la figura 22.



Figura 22. Riesgo laboral en bioterio

Fuente: Bernal, 2005

Todo el personal deberá recibir capacitación apropiada (OMS, 2005).



Figura 23. Manipulación inadecuada de jeringas utilizadas
Fuente: Bernal, 2005



Figura 24. Apropiada manera de colocar tapa a jeringas usadas
Fuente: Bernal, 2005

◆ Prácticas Especiales

Las cajas serán descontaminadas especialmente por autoclave antes de su limpieza o lavado

Se colocarán señales de advertencia del peligro biológico en las puertas y otros lugares apropiados (Alonso *et al*, 1998).



Figura 25. Símbolo de Riesgo Biológico
Fuente: Majerowicz, 2013a

Será obligatorio llevar guantes, resistentes a las mordeduras y arañazos cuando se manipulen animales infectados, o impermeables cuando la exposición cutánea al material infeccioso sea inevitable (Bencomo *et al*, 2010).

El personal se cambiará de ropa de trabajo y zapatos al entrar y salir de la unidad animal. Son aconsejables los zapatos cerrados y, llegado el caso, se usarán con fundas protectoras. También es recomendable el uso de mascarillas quirúrgicas (Bencomo *et al*, 2010).

El responsable del área limitará el acceso a las personas señalando el peligro potencial. En general, aquel personal con mayor riesgo potencial de adquirir una infección, no será autorizado a penetrar en las salas de inoculación.

El responsable del área dispondrá de un sistema de vigilancia, y el personal estará advertido del peligro potencial y, obviamente, inmunizado (CONICYT, 2008).

Cuando el agente infeccioso por utilizarse requiere condiciones especiales, por ejemplo vacunaciones, se deberá colocar un signo de peligro especial junto con el símbolo universal de Bioseguridad en la puerta de entrada. Se deberá indicar el agente infeccioso, lista de nombres y teléfonos del personal responsable y los requerimientos especiales para entrar en el área (CONICYT, 2008).

Se deberá tener especial cuidado para evitar la contaminación de la piel con el agente infeccioso, se deberán usar guantes cuando el contacto sea inevitable.

Todos los desperdicios de la sala serán apropiadamente descontaminados preferiblemente mediante autoclave, antes de descartarse. Las carcasas de los animales infectados serán incineradas y transportadas las cajas convenientemente cerradas (CONICYT, 2008).

Se utilizarán unidades de agujas y jeringas desechables, para la inyección o aspiración de fluidos infecciosos. Una vez utilizadas, se descontaminarán por autoclave, antes de eliminarlas.

La limpieza de los pisos de la sala deberá realizarse con un trapo embebido en la solución desinfectante apropiada (CONICYT, 2008).

Las muestras de suero consideradas como de riesgo para el personal, serán apropiadamente recolectadas y convenientemente guardadas.

Si es necesario disponer de muestras adicionales, la extracción se realizará en forma periódica, de acuerdo a las facilidades de trabajo (CONICYT, 2008).

Los residuos de la unidad animal se descontaminarán (en el autoclave o en una cabina de fumigación) antes de ser eliminados por las vías convencionales. Los animales muertos se evacuarán del animalario en bolsas de plástico dobles, soldadas y estancas o en contenedores herméticos y se eliminarán como residuo sanitario específico o de riesgo, grupo II (Alonso *et al*, 1998).

◆ **Contenedores Especiales**

Se utilizarán cabinas de seguridad biológica o bien equipos especiales de protección, anteojos y otros, como máscaras, etc., cuando el peligro potencial de formación de aerosoles se haga real. Esto incluye necropsia de los animales infectados, recolección de tejidos, fluidos, inoculación intranasal de los animales y manipulación de grandes volúmenes de material infeccioso (CONICYT, 2008).



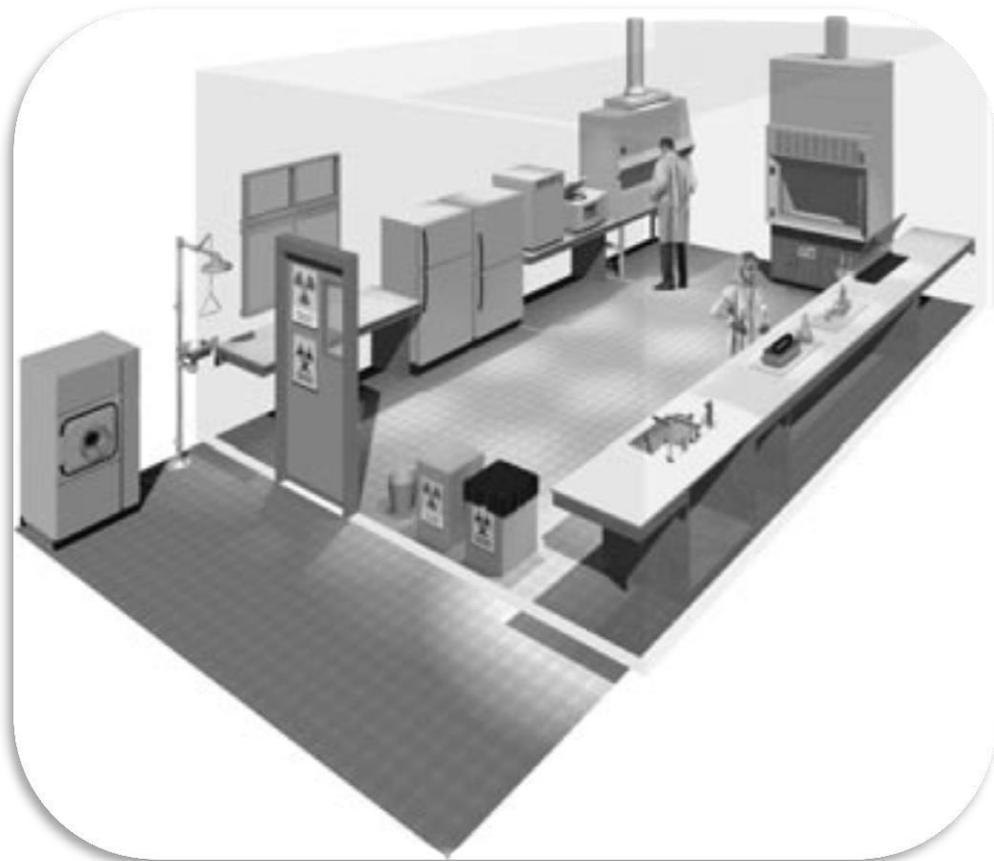


Figura 26. Nivel de bioseguridad 2 (Básico)

Fuente: OMS, 2005

2.2.2.3 Nivel de bioseguridad 3 (Contención)

Este nivel es apropiado para trabajar con animales que son inoculados deliberadamente con agentes incluidos en el grupo de riesgo 3, o cuando así lo indique la evaluación del riesgo (OMS, 2005).

Microorganismos 3 (riesgo individual elevado, riesgo comunitario bajo) son agentes patógenos que suelen provocar enfermedades humanas o animales graves pero que ordinariamente no se propagan de un individuo a otro (García *et al*, 2012).

Se trabaja con animales infectados con agentes exóticos que tienen riesgo de transmisión por aerosoles y pueden causar una enfermedad seria o potencialmente letal. Entre estos tenemos Brucella, Fiebre Aftosa. Las medidas preventivas y de tratamiento efectivo están disponibles (Bernal, 2005).

Todos los sistemas, prácticas y procedimientos habrán de ser revisados y certificados nuevamente una vez al año (OMS, 2005).

Se aplicarán las siguientes precauciones de seguridad:

El animalario estará aislado de las áreas comunes al personal por medio de un vestíbulo o zona de acceso controlado a través de un mínimo de dos puertas, destinado a mantener la diferencia de presiones entre laboratorio y el espacio adyacente, dicho acceso funcionara como vestidor (Camacho *et al*, 2007).

Se dispondrá de un incinerador de fácil acceso en la instalación o se tomarán otras disposiciones al mismo efecto con las autoridades competentes (OMS, 2005).

Los animales infectados con microorganismos del grupo de riesgo 3 estarán alojados en jaulas aisladas o en locales con salidas de ventilación situadas detrás de las jaulas (OMS, 2005).

Toda la ropa protectora deberá ser descontaminada antes de enviarla a la lavandería. Se ofrecerá al personal la posibilidad de inmunizarse, si procede (OMS, 2005).

◆ Prácticas Especiales

Se aplicará lo indicado en los puntos del Nivel 2 a los cuales se agrega lo siguiente:

Si se utiliza un circuito de vacío, debe estar protegido por filtros HEPA (High Efficiency Particulate Air) y las trampas de agua han de contener un desinfectante apropiado. Se ha de desechar la conexión a un circuito de vacío general (CONICYT, 2008).

El vestuario de trabajo tiene que ser completo, con protectores de zapatos o botas y máscara filtrante y se debe descontaminar antes de llevar a lavar. Mediante consignas estrictas, se definirá el método de descontaminación de la zona. Será obligatorio llevar guantes resistentes para la manipulación de los animales que se han de descontaminar en el autoclave después de usarlos (Alonso *et al*, 1998).



Figura 27. Protección completa de personal
Fuente: Majerowicz, 2013a

◆ Contenedores Especiales

El personal se protegerá con ropas y/o equipos para todos los procedimientos con los animales infectados y con material infeccioso (CONICYT, 2008).

El riesgo de los aerosoles provenientes de los animales infectados o de las camas, se evitará colocando los animales en cajas especiales con un sistema de compartimentos de contención parcial, las que se colocarán en gabinetes o campanas de flujo laminar, a su vez el fondo de la caja debe tener un sistema de filtros absorbentes u otro dispositivo similar (CONICYT, 2008).

◆ Instalaciones para los animales

Las cajas para los animales serán construidas en material que facilite su limpieza y cuidado.

El pasaje a través de dos habitaciones contiguas, se realizará por puertas y corredores de acceso. La separación física será provista por puertas dobles (CONICYT, 2008).

En el interior las superficies de paredes, techos y pisos deberán ser resistentes al agua y fácilmente lavables. Estas superficies deberán ser convenientemente selladas para facilitar una fumigación o recontaminación del espacio.

El acceso a la zona (nivel 3) deberá estar señalizado y provisto de un compartimento con doble puerta. Las ventanas no serán practicables (CONICYT, 2008).

Debe disponerse de un vestuario con ducha, próximo a la puerta de entrada. (Bencomo *et al*, 2010).

Las puertas tendrán cierre propio y deben permanecer cerradas durante las manipulaciones (Camacho *et al*, 2007).

Un autoclave para descontaminación debe estar disponible en una ubicación conveniente en el bioterio, donde se origina el riesgo biológico. Los materiales o residuos con riesgo biológico deben ser autoclavados antes de ser transferidos hacia otras áreas o al ser desechados como basura (Majerowicz, 2013b).

Deberá proveerse de un eficiente sistema de ventilación. No deberá haber recirculación de aire dentro del edificio.

El aire filtrado hacia el exterior proveniente de cabinas de seguridad biológica tipos I y II, deberá serlo a través de filtros HEPA (CONICYT, 2008).

Los animales muertos deben ser colocados en una doble bolsa estanca dentro de la unidad; el exterior de la bolsa se descontaminará por fumigación o sumergiéndolo en un baño descontaminante. Después, debe eliminarse como residuo sanitario específico o de riesgo, grupo III (Alonso *et al*, 1998).



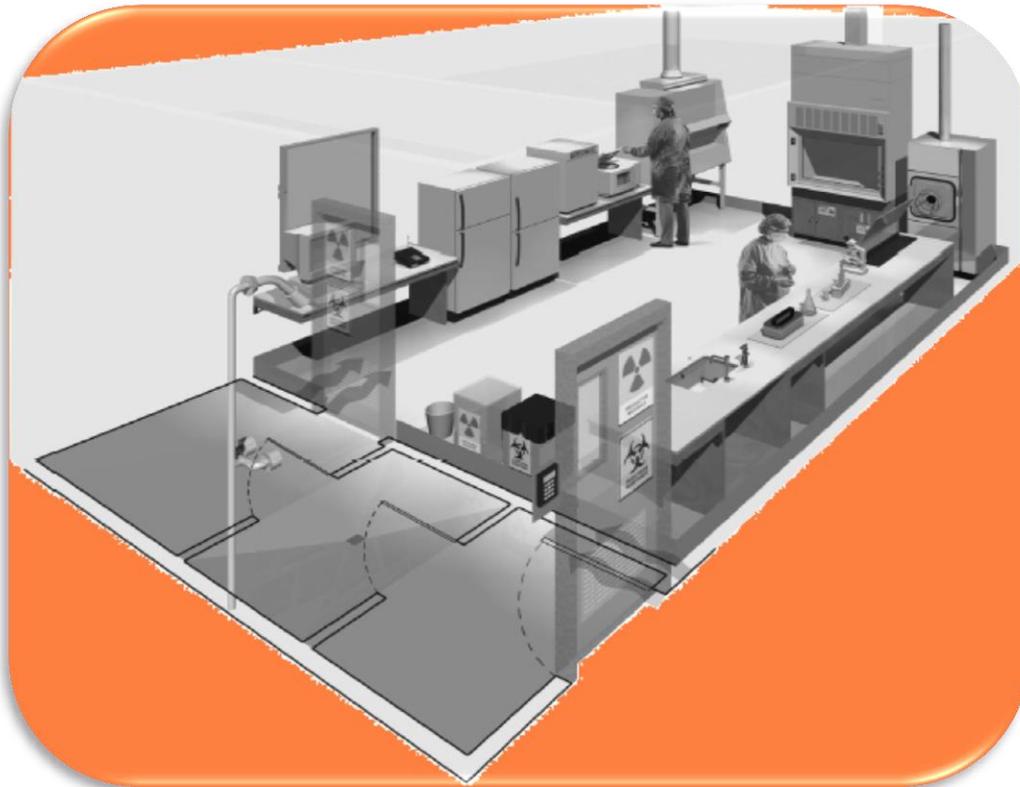


Figura 28. Nivel de Bioseguridad 3 (Contención)

Fuente: Bernal, 2005

2.2.2.4 Nivel de bioseguridad 4 (Máxima Contención)

El trabajo que se realice en estas instalaciones normalmente guardará relación con el del laboratorio de contención máxima – nivel de bioseguridad 4, y habrá que armonizar las normas y los reglamentos nacionales y locales para aplicarlos a ambos tipos de instalaciones (OMS, 2005).

Microorganismos de riesgo 4 (riesgo individual y comunitario elevado) son agentes patógenos que suelen provocar enfermedades graves en el ser humano y animales y que se transmiten fácilmente de un individuo a otro, directa o indirectamente (García *et al*, 2012).

Se transmiten por vía aérea o se desconoce su riesgo de transmisión. Entre estos encontramos Lassa, Ebola, Marburg, Machugo. Usualmente no están disponibles ni medidas preventivas ni tratamiento efectivo (Bernal, 2005).

Para el trabajo en laboratorios que requieren trajes especiales se utilizarán prácticas y procedimientos especiales, además de los que se describen a continuación.

Se cumplirán todos los requisitos de los animalarios de los niveles de bioseguridad 1, 2 y 3.

El acceso estará estrictamente controlado; únicamente personal autorizado tendrá acceso al bioterio, la puerta de acceso deberá estar siempre cerrada y custodiada por personal de vigilancia (García *et al*, 2012).

El personal habrá recibido el máximo nivel posible de formación en microbiología y estará familiarizado con los riesgos que entrañan su trabajo y las precauciones necesarias.

Se entrará en la instalación por un vestíbulo de cierre hermético cuya parte limpia estará separada de la parte restringida por las instalaciones de cambio de ropa y duchas (OMS, 2005).

El personal deberá quitarse la ropa de calle al entrar y ponerse ropa protectora especial. Después del trabajo se quitará la ropa, la separará para ser tratada en autoclave, y se duchará antes de salir (OMS, 2005).

Todas las manipulaciones de animales infectados con agentes del grupo de riesgo se realizarán en condiciones de contención máxima – nivel de bioseguridad.

Todos los desechos y el material de los lechos de los animales se tratarán en la autoclave antes de sacarlos del animalario. Se someterá al personal a vigilancia médica (OMS, 2005).

◆ **Prácticas Especiales**

Se utilizarán los criterios de los puntos del Nivel 3 a los cuales se agregan los siguientes:

La unidad animal estará situada en un edificio separado o dentro de una zona claramente aislada en el interior del edificio. Si hay aberturas, deberán estar selladas. Será obligatorio un vestuario de doble zona con ducha en cada entrada (Bencomo *et al*, 2010).

Determinados grupos humanos como niños, embarazadas, inmunodeficientes e inmunodeprimidos podrán aumentar su riesgo, o adquirir la infección, por lo cual la entrada deberá estar absolutamente restringida (CONICYT, 2008).

Deberá establecerse un protocolo para las situaciones de emergencia (CONICYT, 2008).

◆ **Contenedores Especiales**

Los animales de laboratorio de este nivel de seguridad serán alojados dentro de cabinas de seguridad biológica, clase 3, en cajas con tapas y en ambientes con presión positiva (CONICYT, 2008).

◆ **Instalaciones para los animales:**

Las salas donde se alojarán los animales estarán ubicadas en edificio separado o en una zona claramente delimitada dentro del edificio. Estarán provistas de puerta doble, autoclave y cámara de fumigación.

Las paredes, pisos y techos, estarán contruidos de modo tal que se pueda realizar un sellado interno, que facilite la fumigación para eliminación de los insectos (CONICYT, 2008).



Las superficies internas serán resistentes a los líquidos y agentes químicos, utilizados en la descontaminación del área. Toda filtración a través de las estructuras deberá ser evitada mediante sellado.

Se minimizarán las superficies tales como soportes para luces, conductos de aire, etc., para evitar zonas sucias, que exijan un proceso de descontaminación. Se proveerá de un lavador automático de manos, el que estará ubicado cercano a la puerta de salida (CONICYT, 2008).

El sistema de ventilación ha de ser autónomo, ha de mantener una depresión controlada, siempre circulando de la zona menos contaminada hacia las zonas de mayor contaminación. El aire extraído se filtrará a través de filtros HEPA y deberá expulsarse al exterior lejos de todas las bocas de aspiración de aire. Un sistema de alarma advertirá de cualquier fallo en el funcionamiento (Alonso *et al*, 1998).

Las puertas externas por las que penetrarán los animales deberán tener cierre de seguridad propio. Las ventanas serán de material resistente a las roturas y deberán estar selladas (CONICYT, 2008).

Se deberá proveer de un autoclave de doble puerta. La puerta que se abra hacia el área externa, se abrirá únicamente cuando el ciclo de esterilización haya sido completado.

Deberán existir cámaras de fumigación o equipos de descontaminación equivalentes para el material que no se puede colocar en la autoclave (CONICYT, 2008).

Los efluentes líquidos de las piletas, cabinas y pisos, etc., serán descontaminados por calentamiento antes de ser descartados. Esto se realizará con sistemas mecánicos o bien biológicos, usando un registro termométrico y microorganismos indicadores con susceptibilidad a los patrones de temperatura (CONICYT, 2008).

Los líquidos de lavado de las estructuras serán descontaminadas con desinfectantes químicos, de probada eficacia.

Las áreas de trabajo tendrán presión positiva, descontaminantes químicos para usar en las superficies, un sistema de luz de emergencia, y un sistema de autoclave de puerta doble para permitir la descontaminación de las ropas y materiales del área (CONICYT, 2008).

Cuando se trabaja en experimentos con animales de laboratorio existen dos fuentes de peligro:

- ◆ Enfermedades que se transmiten al hombre y que fueron natural o experimentalmente adquiridas, como: Brucelosis, Cólera, Histoplasmosis, Hepatitis, Leptospirosis, Poliomiелitis y Tuberculosis, son transmitidas a través de las heces y la orina
- ◆ El material infeccioso utilizado en el desarrollo de la experiencia (CONICYT, 2008).



En el primer caso, la colonia de animales excreta el agente infeccioso por heces, orina, saliva, aire expirado y la transmisión es posible cuando se sostiene el animal, en las inhalaciones, en la limpieza de las cajas, en el contacto con la sangre y tejidos durante la necropsia (CONICYT, 2008).

Existe, además, una categoría de animales que padecen una infección subclínica, son potencialmente infecciosos y a medida que progresa la enfermedad, la misma se expresa con la sintomatología clínica y deberán, por lo tanto, ser descartados.

Según CONICYT, 2008

Cuando se produzcan heridas:

- ◆ Se deberá lavar con abundante agua y jabón
- ◆ Se recibirá inmediata asistencia médica, y se aplicará sobre la zona de la lesión, una solución de antiséptico

- ◆ El animal que ha producido la lesión, deberá ser identificado, anestesiado y examinado
- ◆ La asistencia médica tendrá en observación al paciente por un período no menor de tres semanas

Los bioterios deben tener un sistema separado especial de cuarentena y observación, especialmente con los animales que por alguna razón son remitidos desde el exterior (CONICYT, 2008).

Los animales que no están involucrados en progreso de trabajos no se permiten en el bioterio.

Todos los cadáveres de animales se incinerarán. Los animales muertos son transportados desde la sala de animales para el incinerador en contenedores herméticos y a prueba de fugas (Moraes *et al*, 2009).





Figura 29. Nivel de Bioseguridad 4 (Máxima Contención)

Fuente: Bernal, 2005

2.3 Bioseguridad del Personal Encargado

El personal que trabaja con animales debe estar informado de los riesgos inherentes al trabajo que realiza y recibir formación sistemática en materia de técnicas, instrumentación, métodos de trabajo y equipos de protección individual con el fin de evitar la posibilidad de contraer una enfermedad, y de impedir la dispersión del agente biológico dentro y fuera del laboratorio de experimentación animal, con el consiguiente peligro para los trabajadores y la comunidad (Bencomo *et al*, 2010).

Desde el punto de vista estructural, los servicios relacionados con las instalaciones de los animales (almacenes de camas, de alimentos para los animales o de jaulas), así como los vestuarios y lavabos del personal, excepto cuando el nivel de seguridad requerido indica lo contrario, deben hallarse fuera de la unidad animal, pero cerca de ella (Bencomo *et al*, 2010).

Un programa eficaz de salud y seguridad ocupacional asegura que los riesgos asociados con el uso experimental de los animales se reduzcan a niveles apropiados (ILAR, 2008).

En el trabajo de experimentación con animales, se pueden adoptar los criterios generales aplicables a los laboratorios y centros de trabajo donde se manipulan agentes biológicos, teniendo en cuenta el tipo de microorganismo con el que se trabaja, o puede ser portador, el animal y, en consecuencia, aplicando el nivel de seguridad biológica correspondiente (Bencomo *et al*, 2010).

El personal profesional que lleve a cabo y apoye programas de investigación que involucren agentes físicos, químicos o biológicos peligrosos (incluyendo radiaciones ionizantes y no-ionizantes) deben estar capacitados para valorar los peligros asociados a los programas y para seleccionar los dispositivos de seguridad apropiados para los riesgos (ILAR, 2008).

También deben identificarse y evaluarse los peligros potenciales tales como mordidas, agentes químicos de limpieza, alérgenos y zoonosis, que son inherentes o intrínsecos al uso de los animales. En la evaluación de riesgos asociados con las actividades peligrosas y en el desarrollo de los procedimientos para manejar tales riesgos se deben involucrar especialistas en salud y seguridad con conocimiento de las disciplinas apropiadas (ILAR, 2008)

El personal expuesto a riesgo debe ser capacitado debidamente. Dicha capacitación debe incluir un conocimiento de los procedimientos rutinarios de su trabajo, entendimiento claro de los riesgos a los que están expuestos y saber implementar las salvaguardas requeridas para su protección (Ochoa, 2001).

El grado y nivel de participación del personal en el programa de salud y seguridad ocupacional debe estar basado en los peligros planteados por los animales y los materiales usados; en la intensidad de la exposición, su duración y frecuencia; en la susceptibilidad del personal; y en la historia de lesiones y enfermedades ocupacionales del centro de trabajo en particular (Clark, 1993 citado por ILAR, 2008)

El personal debe lavarse las manos y cambiarse de ropa con la frecuencia necesaria para mantener constante su limpieza e higiene personal. La práctica de baño antes y/o después de la jornada laboral por parte del personal, estará determinada con base en las necesidades establecidas por el bioterio, de acuerdo con el criterio del Médico Veterinario responsable (Ochoa, 2001).



Figura 30. Lavado de manos
Fuente: Camacho *et al*, 2007

2.3.1 Vestimenta indispensable dentro del bioterio:

Experimentación: Vestir bata de laboratorio que sea de uso exclusivo para el bioterio, cubre zapatos, cubrebocas, gorro, lentes y guantes cuando sea necesario.

Producción de animales: Solo personal del bioterio. Se utilizará overol, botas, gorro, lentes y guantes cuando sean necesarios. En la figura 31 podemos observar la vestimenta a utilizar en el bioterio, en dependencia del trabajo a realizar (García, 2009).



Figura 31. Vestimenta para salas de experimentación

Fuente: BEBS, 2009c

Además de la vestimenta el personal que trabaja en el bioterio debe presentar:

Acreditación en categoría correspondiente, certificado sanitario (vacunas específicas), detección de sensibilidad a alérgenos, actualización de sus conocimientos (Genovese, 2012).

2.3.2 Reglamento que se debe cumplir en el bioterio

Describe las funciones y servicios que brinda el bioterio, las reglas que los usuarios deben cumplir así como las sanciones, ingreso, egreso, tráfico y uso de las instalaciones, alta de usuarios (BEBS, 2009b)

- ◆ Prohibido fumar, comer, beber, masticar chicle, gritar, chiflar o hacer ruidos estruendosos, uso de equipos que produzcan ruidos que perturben a los animales. Entrar con niños y mascotas, maltratar, hacinar o descuidar a los animales.
- ◆ Reportar cualquier anormalidad en los animales o en sala donde se mantienen sus jaulas escribir en bitácora de entrada (BEBS, 2009c).

Causas de Sanción

- ◆ Incumplimiento del reglamento
- ◆ Falta de integridad, honradez y ética
- ◆ Sustraer animales, mobiliario o equipo del Bioterio sin autorización
- ◆ Uso indebido de las instalaciones
- ◆ Tomar animales que no les correspondan
- ◆ No vestir adecuadamente la ropa de protección
- ◆ Hacer uso indebido y deteriorar en forma deliberada, el mobiliario y equipo, así como causar daños al inmueble
- ◆ Incurrir en actos de violencia o malos tratos en contra del personal o de los animales
- ◆ Desobediencia reiterada a realizar los procedimientos operativos establecidos para el ingreso, egreso, tráfico y uso de las instalaciones y el manejo de los animales en experimentación (Universidad Veracruzana, 2014).

2.4 Bioseguridad de los animales de laboratorio

Todo el personal involucrado con el cuidado y uso de animales deben ser adecuadamente educados, entrenados, y/o capacitados en los principios básicos de la ciencia del animal de laboratorio para ayudar a garantizar la ciencia de alta calidad y el bienestar animal (CNCI, 2011).

La primera condición del investigador, o de cualquier miembro de su equipo, que trabaja con animales de laboratorio es el respeto por la vida, por el dolor y el sufrimiento a que éstos pueden ser sometidos en los trabajos bajo su responsabilidad.

En la práctica el cuidado de los animales de laboratorio es responsabilidad de varias personas según los procedimientos requeridos, y, dependiendo de las leyes del país donde se realice el estudio, la responsabilidad final con frecuencia recae en el investigador principal (Cardozo y Mrad, Sf).

2.4.1 Barreras Sanitarias

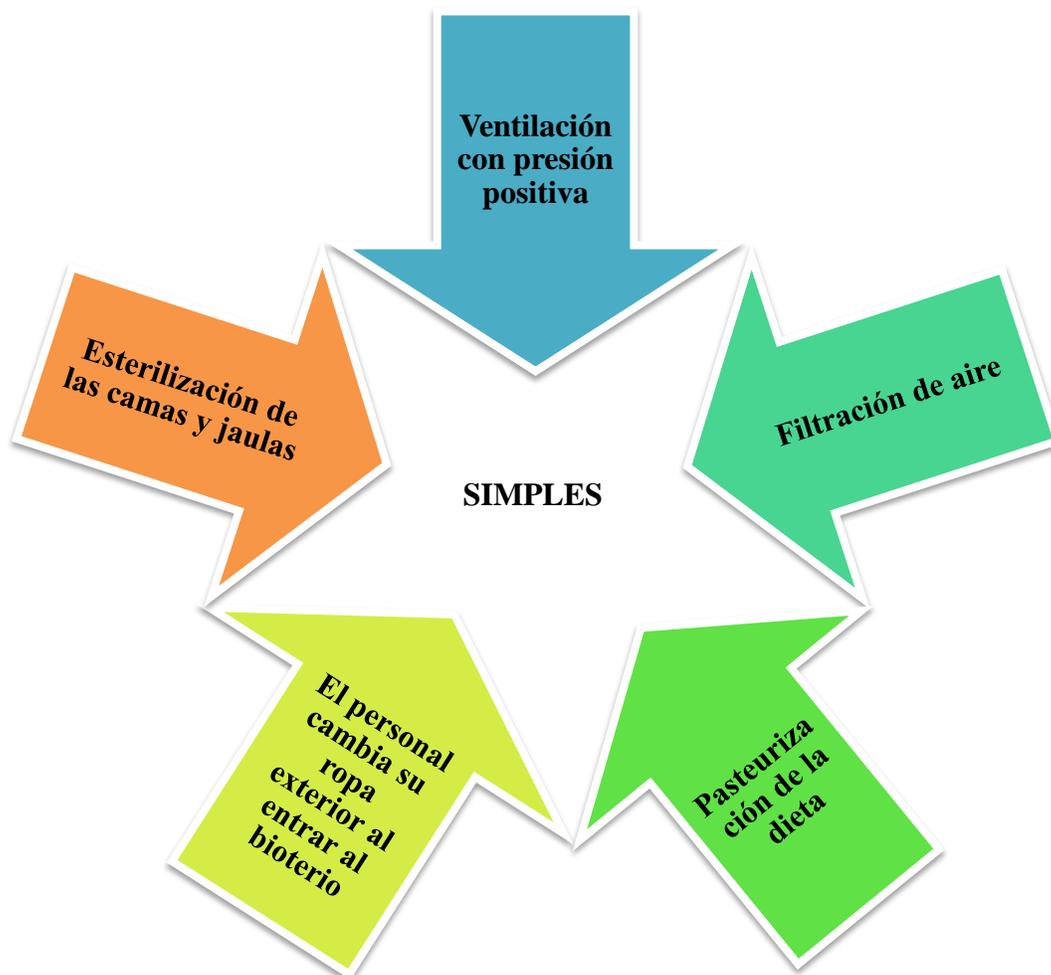
Conjunto de medidas técnicas, mecánicas, teóricas y sanitarias para evitar las contaminaciones en cualquier sentido, dentro de un área de producción, mantenimiento, experimentación o sistema mixto. (ILAR: Institute of Laboratory Animal Resources) (Genovese, 2012).



2.4.1.1 Tipos de Barreras

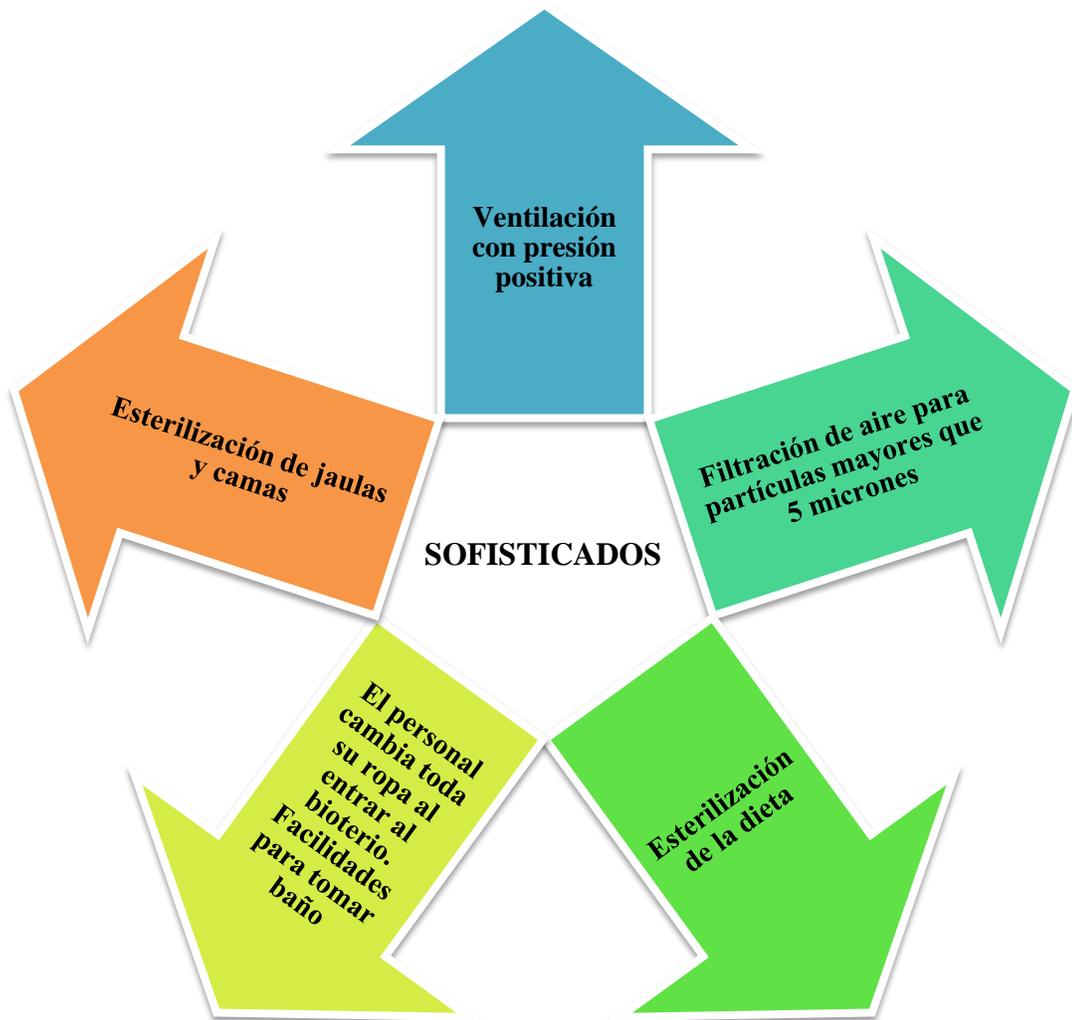
- ♦ **Técnicas:** instalaciones que permiten tener al animal en el estado sanitario exigido
- ♦ **Barreras Mecánicas:** necesidades de funcionamiento, ventilación, iluminación, limpieza, esterilización, aislamiento acústico
- ♦ **Barreras Teóricas:** protocolos de trabajo, mantenimientos de aparatos y equipos, cuarentenas, etc.
- ♦ **Barreras Sanitarias:** crear ambiente eficaz y seguro para evitar zoonosis y contaminaciones indeseadas (Genovese, 2012).

2.4.2 Clasificación y características de las barreras



Esquema 1. Barreras simples

Fuente: Cardozo *et al*, 2007



Esquema 2. Barreras sofisticadas
Fuente: Cardozo *et al*, 2007

2.4.3 Barreras para el ingreso de animales (Cuarentena):

- ◆ Certificado de procedencia
- ◆ Transporte adecuado
- ◆ Permanencia en sala especial antes del ingreso para repetir los análisis que se considere necesario
- ◆ Observación clínica mínima 15 días
- ◆ Derivación por histerectomía (Genovese, 2012).

TABLA 8. SEÑALIZACIONES

SÍMBOLO	DESCRIPCIÓN	SÍMBOLO	DESCRIPCIÓN
	<p>Advertencia de Área Restringida Acceso solo Personal Autorizado</p>		<p>Símbolo internacional de riesgo biológico</p>
	<p>Aviso Use Elementos de Protección Personal</p>		<p>Batas (Protección de ropa)</p>
	<p>Señalización Botiquín en caso de Primeros Auxilios</p>		<p>Uso obligatorio de guantes</p>



SÍMBOLO	DESCRIPCIÓN	SÍMBOLO	DESCRIPCIÓN
	<p>Advertencia Prohibido fumar</p>		<p>Uso obligatorio de cubrebocas y lentes de seguridad</p>
	<p>Advertencia Prohibido el Ingreso o Consumo de Bebidas y Alimentos</p>		<p>Protectores faciales</p>
	<p>Señalización Salida de Emergencia</p>		<p>Advertencia de riesgo biológico</p>



SÍMBOLO	DESCRIPCIÓN	SÍMBOLO	DESCRIPCIÓN
	<p>Prevención Riesgo Eléctrico</p>	 <p>Tóxica</p>	<p>Riesgo Sustancia Tóxica</p>
	<p>Riesgo Materiales con peligro de explosión</p>	 <p>Oxidante</p>	<p>Riesgo Oxidante</p>
 <p>Fácilmente inflamable</p>	<p>Riesgo Fácilmente Inflamable</p>	 <p>Nociva</p>	<p>Riesgo Sustancia Nociva</p>
 <p>Corrosiva</p>	<p>Riesgo Sustancia Corrosiva</p>		<p>Prevención Extintor</p>



CAP.

III



SELECCIÓN DE ANIMALES DE LABORATORIO

3.1 Características generales de los animales de laboratorio

3.1.1 Roedores

3.1.1.1 Ratón

3.1.1.2 Rata

3.1.2 Lagomorfos

3.1.2.1 Conejos

3.2 Genética y reproducción

3.2.1 Control Genético

3.3 Ambiente

3.3.1 Microambiente

3.3.1.1 Caja o Jaula

3.3.1.2 Recomendaciones de espacio (densidad animal)

3.3.1.3 Lecho o cama

3.3.1.4 Agua de Bebida

3.3.1.5 Alimento: dietas y requerimientos

3.3.2 Macroambiente

3.3.2.1 Temperatura

3.3.2.2 Humedad Relativa

3.3.2.3 Ventilación

3.3.2.4 Iluminación

3.3.2.5 Ruido

3.3.2.6 Olor

3.3.2.7 Productos Químicos

3.4 Principio de las Tres R's como expresión de virtudes y valores

3.4.1 Reemplazo

3.4.2 Reducción

3.4.3 Refinamiento



Fuente: BEBS, 2009b



3.1 Características generales de los animales de laboratorio

El cuidado, el uso y el trato humano adecuado de los animales de laboratorio producidos o utilizados en la investigación, el ensayo, o la enseñanza (CNCI, 2011), son términos esenciales para determinar la selección del tipo de especie animal a criar en un bioterio.

3.1.1 Roedores

Estos animales de laboratorio comenzaron a ser utilizados para estos fines a mediados del siglo XIX y comenzaron a producirse como reactivos biológicos, llegando a ser los más utilizados (Vega, 2002).

En el 2002, se conoció la noticia sobre el enorme parentesco biológico entre el ser humano y el ratón: ambos mamíferos comparten el 99% de su genoma (30,000 genes), siendo el 1% restante (unos 300 genes) propios de cada especie. Según el Consorcio para la secuenciación del genoma del ratón responsable del anuncio (integrado por 200 científicos de 12 países del mundo), el ratón tiene genes amplificados para el olfato, la inmunidad y los mecanismos de atracción sexual y reproducción (ECastillo, 2013).

3.1.1.1 Ratón

Es el preferido en investigaciones biomédicas. Pertenecen al orden Rodentia, género *Mus* y especie *Mus musculus*. Es de tamaño pequeño, alta fecundidad, fácil manejo, bajo costo, variabilidad, tienen hábitos nocturnos y viven en jerarquía (Victoria y Morón, 2010).

El ratón blanco Swiss es una variedad albina del ratón común, el cual tiene el pelo gris. Es inofensivo, pero muerde con fiereza al que lo maneja si no guarda las precauciones necesarias (Vega, 2002).

Es un animal de gran prolificidad, fácil adaptación a su explotación en grandes colectividades, amplia variabilidad genética y su sensibilidad para determinados virus y bacterias, razón por lo cual es el modelo representativo de los reactivos biológicos.

Es importante destacar que los ratones consumen mucho oxígeno: 1.7 ml/g de peso vivo/hora (Vega, 2002).

3.1.1.2 Rata

Han llegado a ser los más utilizados, después del ratón blanco, pertenecen al orden Rodentia y género *Rattus* y especie *novergicus*

Es un roedor dócil, cariñoso, que se deja manipular fácilmente, de color blanco, con el iris y las extremidades de las patas rosadas. Su hocico es puntiagudo, el cuerpo alargado y la cola larga, recubierta de escamas (Vega, 2002).

Al igual que con los ratones, hay estirpes seleccionadas, mutantes, consanguíneas, etc. Entre las de mayor interés se encuentra:

- ◆ **Sprague-Dawley:** albina, cabeza fina y cola larga, sumamente prolífica y muy receptible a infecciones respiratorias



- ◆ **Wistar:** albina, cabeza gruesa, cola más corta que el cuerpo, orejas largas y de sensible resistencia a ciertas infecciones. Sus camadas suelen ser reducidas
- ◆ **Long Evans:** cuerpo blanco, cabeza, cuello y hombros negros (Vega, 2002).

Como dato característicos, las ratas carecen de vesícula biliar, por lo cual la bilis desciende de los lóbulos hepáticos por canales que se reúnen para formar el conducto colédoco.

Las crías nacen desvalidas, ciegas, sordas y sin pelos. Los adultos no deben sujetarse por la cola, debido a que la piel que la recubre se desprende con facilidad, en cuyo caso puede necrosarse y caerse.

Cabe destacar que estos animales no pueden regurgitar sus alimentos o vomitar, por lo que son muy vulnerables a agentes tóxicos. También, su flora oral es abundante y variada, por lo que causan fácilmente infección al morder (Vega, 2002).

3.1.2 Lagomorfos

Es de las primeras especies utilizadas en experimentación biológica.

3.1.2.1 Conejo

Pertencen a la clase mamífera, orden Lagomorpha, género *Oryctolagus*, especie *cuniculus*. Están descritas hasta 28 razas y cerca de 70 variedades.

Las principales diferencias se basan en tamaño y peso, que va desde los conejos gigantes de más de 5 kg de peso y el minúsculo de Holanda, con gramos de peso, cuerpo es redondo, cabeza alargada provista de largas orejas, cola corta. Sus patas posteriores son más largas que las anteriores. Sus crías nacen ciegas, sordas y con escasa vitalidad (Vega, 2002).

Conejo (*Oryctolagus cuniculus*): docilidad, fertilidad, grandes vasos en las orejas, se utilizan en pruebas de pirógeno. Son herbívoros, desarrollado sentido del olfato y la audición, ovulación inducida por el coito (Victoria y Morón, 2010).

Poseen un esqueleto muy ligero y su vejiga es muy dilatada, conteniendo un líquido turbio, maloliente, de color amarillo intenso, ya que el conejo produce grandes cantidades de orina y es coprófago. No se deben sujetar de las orejas cuando son trasladados ya que se puede dañar al presionar los cartílagos (Vega, 2002).

Estos animales pequeños entre ellos los roedores y lagomorfos, tienen grandes ventajas económicas sobre los de mayor tamaño porque son de menor costo de producción, el mantenimiento es más fácil, requieren condiciones más sencillas, y menos costosas, disminuyendo los costos.

Además, con estos animales más pequeños se han logrado desarrollar técnicas *in vitro* que permiten la utilización de menor cantidad. En los estudios toxicológicos, en los que se exige, mínimo 2 especies, resultan muy utilizados (Victoria y Morón, 2010).



Tabla 9. Especies utilizadas en experimentación biomédica

ESPECIE	VENTAJAS	FISIOLOGÍA Y ANATOMIA	REPRODUCCIÓN	GENERALIDADES
Ratón (<i>Mus musculus</i>)	Tamaño pequeño, alta fecundidad, fácil manejo, bajo costo, variabilidad	Hábiles nocturnos. La mitad de la mandíbula tiene un incisivo y tres molares, no tiene caninos y premolares	Hembras son poliéstricas, su ciclo estral es de 4 días con duración de 14 hrs. Después del apareo se debe verificar tapón, las crías nacen de 19 a 21 días	Viven en jerarquías, el material utilizado para cama debe estar libre de químicos, polvo y microorganismos; la comida se suministra <i>ad-libitum</i> , en forma de pellets de 3-5g al día; el agua se administra <i>ad-libitum</i> y se puede acidular o clorar
Rata (<i>Rattus norvegicus</i>)	Es el más usado en fisiología, toxicología, farmacología, inmunología, su tamaño facilita técnicas de microcirugía	Tamaño de 10 a 15 veces mayor al ratón, no posee vesícula biliar. Posee una glándula en la comisura del ojo llamada Arderían	Hembra con ciclo estral de 4 a 5 días y dura 12 horas	Son menos agresivos que los ratones; al igual que con éstos se debe controlar la temperatura, aire, humedad y bajos niveles de amoniaco; el agua y la comida se suministran <i>ad-libitum</i>
Conejo (<i>Oryctolagus cuniculus</i>)	Docilidad, fertilidad, grandes vasos en las orejas, se utilizan en pruebas de pirogénos e inmunología	Desarrollado el sentido del olfato y la audición, el estómago no se contrae para vaciarse, ingiere alimento entre 60-80 veces al día	Poliéstrica continua y no ovula espontáneamente sino que lo hace inducida por el coito	Deben ser alojados en jaulas individuales, no deben tener cambios bruscos de aire, temperatura o ruido; son herbívoros, comen 36-60g/kg de peso y beben 50-150ml agua/kg de peso

Cardozo et al, 2007



Tabla 10. Características Generales de los animales de laboratorio

ESPECIES	PESO AL NACER	EDAD DESTETE	PESO AL DESTETE (g)	EDAD PUBERTAD (días)	PESO ADULTO (g)
Ratón	1-2	19-21	10-12	35	25-30
Rata	5-6	21	35-40	45-75	250-400
Conejo	100	30	1000	120-150	4000-5000

(BEBS, 2009a)

Según Arrebola *et al* (2010) el promedio de vida de la rata es de 30 meses con un rango (36-40 meses) y el ratón con un promedio de vida 24 meses, entre un rango de 22-40 meses.

3.2 Genética y reproducción

Las características genéticas son importantes con respecto a la selección y manejo de los animales para usarse en las colonias de crianza y en la investigación científica biomédica.

La información genealógica permite la selección apropiada de las parejas progenitoras y de los animales experimentales que no están interrelacionados o cuya interrelación se desconoce (ILAR, 2008).

Afinando el concepto de reactivo biológico, los aspectos relacionados con la homogeneidad y/o definición genética de los animales son de incuestionable importancia.

No se puede utilizar en el laboratorio un animal cuya genética no sea conocida o completamente definida, puesto que podría responder a condiciones desconocidas por el investigador y sesgar de ese modo sus resultados (Cardozo *et al*, 2007).

Es esencial una investigación de las características genéticas para seleccionar los animales, a fin de elegir los portadores de caracteres consistentes con los objetivos experimentales (Tovar, 2010).

Deben considerarse las diferencias conocidas entre especies, colonias o cepas que incluyen; expectativas de vida, anatomía, tamaño corporal, sistemas fisiológicos y metabólicos, requerimientos nutricionales, susceptibilidad a enfermedades, características comportamentales, susceptibilidad a xenobióticos, etc. (Tovar, 2010).

Es muy importante conocer la historia genética completa de los animales antes de comenzar a trabajar (Tovar, 2010).



3.2.1 Control Genético

Es un conjunto de técnicas que nos permite verificar si los animales que estamos utilizando aún conservan las características genéticas originales de la línea a la cual pertenecen, o han sufrido alguna contaminación genética, mutación o cambio adaptativo que haya modificado el modelo dándole otras características que pueden reorientar o modificar los resultados previamente definidos sobre otro modelo (Cardozo y Mrad, Sf).

Estos controles no están diseñados para detectar la presencia de mutaciones espontáneas, ya que por producirse al azar sería necesario evaluar la totalidad del genoma (Cardozo y Mrad, Sf).

Los animales exogámicos se utilizan ampliamente en investigación científica biomédica. Las poblaciones fundadoras deben ser lo suficientemente grandes para asegurar, a largo plazo, la heterogeneidad de las colonias de crianza.

Para facilitar la comparación directa de los datos experimentales obtenidos de animales exogámicos se deben usar técnicas que mantengan la variabilidad genética y que repliquen las representaciones de los fundadores (ILAR, 2008).

El control genético de los animales de experimentación es de suma importancia para garantizar la validez y la reproducibilidad de los resultados de quien los utilizan (Cardozo y Mrad, Sf).

Se han desarrollado cepas endogámicas de varias especies, especialmente de roedores, para satisfacer necesidades específicas de la investigación científica (Festing, 1979 y Gill, 1980, citado por ILAR 2008).

La homocigosis de estos animales permite que los resultados experimentales puedan replicarse y compararse mejor. Es importante verificar periódicamente en los animales endogámicos la homocigosis genética (Festing, 1982 y Hedrich, 1990, citado por ILAR, 2008).

Se han desarrollado varios métodos de verificación que utilizan técnicas inmunológicas, bioquímicas y moleculares (Cramer, 1983 *et al*, citado por ILAR, 2008).

Se deben desarrollar los sistemas de manejo apropiados para reducir al mínimo la contaminación genética que resulta de la mutación y de la miscegenación (ILAR, 2008).

Los animales transgénicos tienen por lo menos un gen que han sido transferidos y cuyo sitio de integración y número de copias puede haber sido o no controlado (Lacy, 1989 *et al*, citado por Peralta, 2012).

3.3 Ambiente

Hay muchos factores físicos, químicos y biológicos que pueden tener influencia sobre los animales de experimentación y que modifican posteriormente los resultados de las investigaciones (Melby y Small, 1983, citado por CCPA, 1998).



Los principales factores ambientales que afectan a los animales pueden clasificarse en:

- ◆ Climáticos: temperatura, humedad, ventilación, etc.
- ◆ Físicoquímicos: iluminación, ruido, composición del aire, sanitizantes, lecho o cama, etc.
- ◆ Habitacionales: forma, tamaño, tipo y población de las jaulas, etc.
- ◆ Nutricionales: dieta, agua, esquema de administración
- ◆ Microorganismos y parásitos
- ◆ Situación experimental (Fuentes *et al*, 2008)

3.3.1 Microambiente

Es el ambiente físico que rodea al animal de manera inmediata, lo compone la temperatura, humedad y la composición gaseosa y particulada del aire, su límite es el encierro primario (es decir la jaula o caja) INTA, Sf.

El microambiente lo conforman la caja o jaula, el alimento, el agua, así como el mantenimiento de las condiciones de higiene de cada uno de ellos (Fuentes *et al*, 2008)

Este debe permitir:

- ◆ Necesidades comportamentales, fisiológicas, temperatura, posturas, interacción social coespecífica y desarrollo de jerarquías

- ◆ Que los animales permanezcan limpios y seco
- ◆ Ambiente seguro, sin escapes ni accidentes
- ◆ Observar con mínimo disturbio (Genovese, 2012).

El aire que debe tener la rata dentro de la caja debe ser de igual importancia como el del macroambiente. Los dos principales contaminantes como derivados de la acumulación de heces y orina, es el amonio y dióxido de carbono. Un nivel aceptable de amonio no debe exceder 25ppm (Peralta, 2012).

La temperatura y humedad del microambiente de las ratas depende del número de factores, incluyendo temperatura, humedad, ventilación, caja designada, material de la caja y número de ratas por caja (Peralta, 2012).

3.3.1.1 Caja o Jaula

Los ratones se alojan en cajas o jaulas especialmente diseñadas para facilitar su bienestar, pueden ser de metal o de plástico. La altura de las paredes de la caja no debe ser menor de 12,7 cm.

Debe tener las siguientes características:

- ◆ Proporcionar espacio adecuado, ser cerrado, seguro y protegerlo de las amenazas externas
- ◆ Ser adecuado en ventilación
- ◆ Ser resistente al lavado, desinfección y esterilización frecuente



- ◆ Permitir la observación del animal
- ◆ Tener pisos y paredes fáciles de limpiar (superficies lisa) y con tapa removible de rejillas o perforada
- ◆ Mantenerse en buenas condiciones de uso
- ◆ Facilitar el acceso de los animales al agua y alimento
- ◆ No presentar bordes cortantes o proyecciones que puedan causar lesiones (Fuentes *et al*, 2008).

3.3.1.2 Recomendaciones de espacio (densidad animal)

El número de animales por jaula estará en relación con el tamaño corporal (edad del ratón, estado pre y postnatal) evitándose la sobrecarga.

El requerimiento mínimo es que el animal disponga de espacio suficiente para moverse y para expresar las posturas normales de conducta y sociabilidad, debe tener fácil acceso al agua y alimento y debe tener un área suficiente con material de lecho limpio y sin obstáculos para moverse y descansar (Fuentes *et al*, 2008).

3.3.1.3 Lecho o cama

Los lechos serán de material absorbente tal como la viruta de madera, la coronta molida del maíz (marlo), etc.; libres de polvillo, alérgenos y sustancias tóxicas.

Deben ser esterilizables. La viruta más adecuada es la de pino blanco, seguida por la de tornillo.

Se debe tener especificaciones de calidad de la viruta para su adquisición, tales como:

- ◆ No ser nocivo.
- ◆ Capacidad de absorción
- ◆ No se recomienda el uso de viruta procedente de cedro o caoba (Fuentes *et al*, 2008).



Esquema 3. Criterios deseables para la cama de contacto de los roedores



Kraft, 1989, citado por CCPA, 1998

3.3.1.4 Agua de bebida

El agua debe ser potable y suministrarse libremente durante toda la vida del animal, puede ser en frascos bebederos de vidrio o de policarbonato. El agua debe ser acidificada, esterilizada mediante autoclave o por método de filtración (Fuentes *et al*, 2008).

3.3.1.5 Alimento: dietas y requerimientos

El alimento es el material primario a partir del cual se van a formar y renovar los tejidos y estructuras corporales, tanto las nuevas como las ya existentes, que deben ser reemplazadas debido al proceso de desgaste (Fuentes *et al*, 2008).



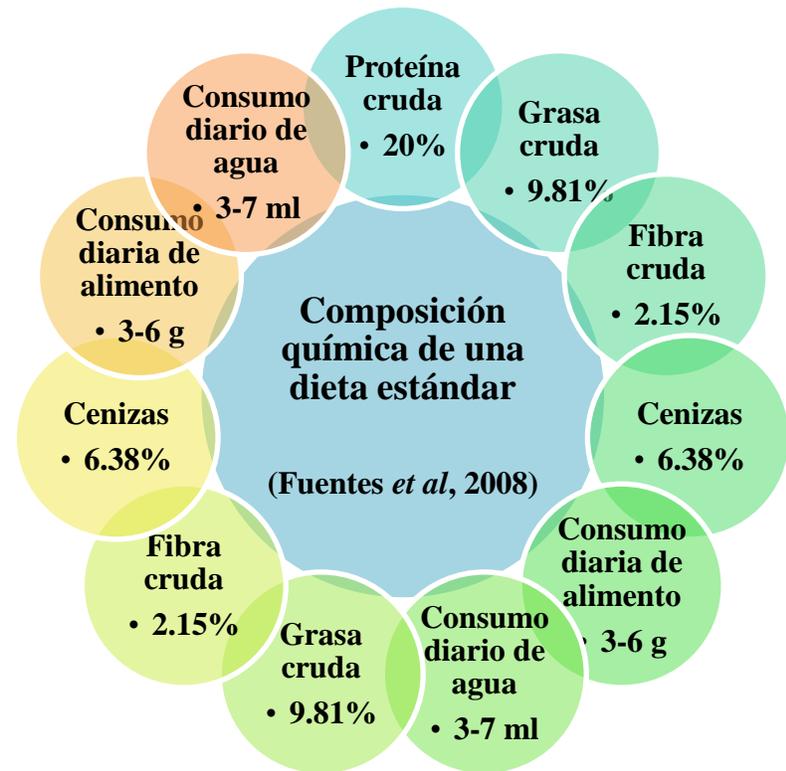
La nutrición es determinante en los estados sucesivos de crecimiento y producción de los animales, de ahí que haya alimentos específicos para cada especie y hasta para cada etapa de su vida (Fuentes *et al*, 2008).

Luego de su adquisición, se debe tener cuidado en el transporte, almacenamiento y manipulación del alimento para reducir al mínimo la introducción de enfermedades, parásitos y vectores potenciales de enfermedades (por ejemplo insectos y otras plagas) y contaminantes químicos (Fuentes *et al*, 2008).

Se debe contar con un procedimiento para la adquisición de alimento y los requisitos que este debe reunir, tales como:

- ◆ Composición, que deberá cubrir las necesidades de crecimiento, gestación, lactancia y mantenimiento del ratón
- ◆ Debe ser agradable al paladar (palatable) y digestible
- ◆ Tener fecha de elaboración y caducidad
- ◆ Certificado de análisis químico proximal y microbiológico por cada lote
- ◆ Estar libre de harina de pescado, aditivos, drogas, hormonas, antibióticos, pesticidas y contaminantes patógenos
- ◆ El alimento en forma de pellet debe tener la consistencia requerida, para evitar pérdida del alimento y el animal pueda consumirlo (Fuentes *et al*, 2008).

Esquema 4. Composición química de una dieta estándar



3.3.2 Macroambiente

Es el ambiente físico del encierro secundario, temperatura, humedad, ventilación, luz y sonidos (Genovese, 2012).

La alteración de los factores del macroambiente producirá cambios en el modelo animal y con ello, la modificación del tipo de respuesta, y aumento de la variabilidad de los resultados entre o dentro de los laboratorios de experimentación (Fuentes *et al*, 2008).

3.3.2.1 Temperatura

Las instalaciones de animales de laboratorio ya sean para reproducción o experimentación, deben mantener una temperatura estable dentro de los cuartos, misma que oscilará entre 18 - 26 °C (Millan, 2007).

3.3.2.2 Humedad relativa

La mayoría de los animales de laboratorio prefieren una humedad relativa alrededor de 50%, pero pueden tolerar variaciones de 40-70% mientras sea de manera relativamente constante y que las variaciones de temperatura sean adecuadas (Clough, 1987, citado por Vega, 2002).

Los niveles de humedad pueden afectar los resultados experimentales, influyendo la regulación de la temperatura, el desempeño del animal, y la susceptibilidad a las enfermedades (CCPA, 1998).

Las condiciones ambientales en que se crían y experimentan los animales influyen decisivamente en las respuestas a los diferentes tratamientos. Si se requiere respuestas estandarizadas, las condiciones en que se mantienen los animales deben ser fijas (Fuentes *et al*, 2008).

3.3.2.3 Ventilación

El propósito principal de la ventilación es proporcionar la calidad del aire adecuada y un entorno estable. En concreto, la ventilación proporciona un suministro adecuado de oxígeno; elimina cargas térmicas causadas por el animal, el

personal, las luces, y el equipo; diluye los contaminantes gaseosos y partículas, incluyendo los alérgenos y patógenos en el aire; ajusta el contenido de humedad y la temperatura del aire de la habitación; y, cuando proceda, crea diferencias de presión de aire (flujo de aire direccional) entre los espacios adyacentes (CNCI, 2011).

Esta debe ser:

- ◆ Sin ventilación natural
- ◆ Con sistemas forzados de impulsión y extracción para:
 - ◆ Suministro de oxígeno
 - ◆ Eliminar calor producido por respiración, iluminación y equipos
 - ◆ Diluir gases contaminantes y partículas
 - ◆ Ajustar humedad
- ◆ Aire filtrado (filtros HEPA) evitan propagación de bacterias y virus. Suelen incorporar luz ultravioleta de alta energía para eliminar cualquier bacteria viva y virus atrapado por el filtro físico, llegando al 99.995% de eficiencia (Genovese, 2012).

Renovación:

- ◆ Suministrar aire fresco
- ◆ Bajo nivel de olores, gases nocivos, polvo, etc.
- ◆ Zonas de mantenimiento al menos 20 renovaciones/horas
- ◆ Zonas de lavado de 15 a 20 renovaciones/horas



- ◆ Zonas de almacenamiento y laboratorios
- ◆ Velocidad 0,5 m/seg (Genovese, 2012).

Impulsión y Extracción:

- ◆ No directo sobre animales o personas
- ◆ Extracción en zonas bajas
- ◆ Presión diferencial en zonas contiguas (Genovese, 2012)



Figura 32. Extracción en zonas bajas de ventiladores

Fuente: Genovese, 2012

3.3.2.4 Iluminación

La iluminación es fundamental, porque afecta a los ciclos de actividad. Se sabe que la luz es importante para la regulación de los ciclos circadianos, la estimulación y sincronización de los ciclos reproductivos (Clough, 1982, citado por SECAL, 1998) y porque puede producir lesiones en la retina, sobre todo en animales albinos (SECAL, 1998).

Se recomienda 12 horas luz/12 horas oscuridad, lo cual se programa con un reloj temporizador (Fuentes *et al*, 2008).

La intensidad, longitud de onda y fotoperiodo son variables que pueden influir en el comportamiento de los animales de laboratorio, por eso la luz debe ser uniforme y sin reflejos (Cardozo *et al*, 2007).

Los ambientes de crianza deben contar con la luz artificial, provista de lámparas fluorescentes tipo luz día, con incidencia oblicua, con una iluminación máxima de 323 lux a un metro del piso; de forma tal, que todas las jaulas, independientemente de su ubicación, reciban intensidades similares de luz (Fuentes *et al*, 2008).

Las diferencias en la luz, la temperatura y el flujo de aire entre las jaulas sobre los estantes pueden afectar los resultados experimentales y deberían ser minimizados al rotar las jaulas en diferentes posiciones sobre los estantes, o asignando a los animales en las jaulas basadas en una tabla de números aleatorios (CCPA, 1998).

3.3.2.5 Ruido

Los roedores poseen un amplio rango de sensibilidad auditiva y los sonidos altos pueden afectarles negativamente durante su desarrollo y a lo largo de sus vidas. Los animales jóvenes pueden llegar a sensibilizarse a sonidos altos, incluyendo el ultrasonido, lo que posteriormente durante su vida, puede incrementar la incidencia de convulsiones en respuesta al sonido (SECAL, 1998).

El rango audible de las ratas 200hZ-80kHz (humanos 16hZ-20kHz) Se denomina ultrasonido por encima de 20kHz y por debajo infrasonido (Genovese, 2012).

El control del ruido se debe considerar en el diseño y operación de las instalaciones (Pekrul, 1991 citado por INTA). La evaluación de los efectos potenciales del ruido sobre los animales justifica la consideración de la intensidad, frecuencia, rapidez de inicio, duración y vibración potencial del sonido y el rango de audición, historia de la exposición al ruido y susceptibilidad a su efecto de la especie, tipo o subtipo (INTA, Sf).

Debido a los cambios en los patrones de exposición al sonido tienen diferentes efectos sobre diferentes animales, el personal deberá tratar de reducir al mínimo la producción de ruidos innecesarios (Armario *et al*, 1985 y Clough, 1982 citado por CNCI, 2011).

El ruido puede ser minimizado mediante el uso de ruedas y parachoques acolchados en carros, camiones y bastidores, y el mantenimiento del equipo adecuado (por ejemplo, la lubricación de ricino). Las radios, alarmas y otros generadores de sonido no deben ser utilizados en las salas de animales a menos que sean parte de un protocolo aprobado o programa de enriquecimiento (CNCI, 2011).

3.3.2.6 Olor

El olor es otro factor que afecta al ratón, es por ello que no se debe utilizar desinfectantes que emanen olores, que sean irritantes y mucho menos desodorizantes, dentro de los ambientes del bioterio.

La percepción de amoniaco en el ambiente es un indicador de saturación del lecho, por lo que se recomienda tener programas de cambio de lecho según la población que se maneje.

Por ejemplo, se conoce que el hombre es capaz de percibir 100 ppm de amoniaco del ambiente del ratón y éste puede percibir desde 25 ppm de amoniaco (Fuentes *et al*, 2008).

3.3.2.7 Productos químicos

Los productos químicos en el ambiente pueden causar de muchas maneras problemas al animal de laboratorio. Los compuestos o metabolitos tóxicos pueden en sí tener efectos locales o sistémicos sobre más o menos todas las especies.

Aunque muchos de los productos químicos que se pueden encontrar en los bioterios pueden ser responsables de desarreglos en la actividad enzimática microsómica del hígado, se detectaron otros problemas a nivel de la función inmunitaria o del comportamiento, de los alérgenos, mutagénesis, teratogénesis y carcinogénesis (CCPA, 1998).



Los efectos son modulados por la interacción entre factores químicos (la concentración; las propiedades fisicoquímicas; la duración, la frecuencia y vía de exposición; la interacción con otros agentes) y factores del huésped (especie, edad, sexo, cepa, estado nutricional, función inmunitaria y estado de salud) (Baker *et al*, 1979, citado por CCPA, 1998).

Los productos químicos llegan al micro ambiente mediante el aire, el agua, los alimentos, la cama y las superficies de contacto. Los contaminantes comunes del aire incluyen las partículas y polvo de cama, los desinfectantes con amoníaco, las feromonas, los solventes orgánicos, los anestésicos volátiles, los insecticidas, y perfumes o desodorantes (CCPA, 1998).

Macro y microambiente: Afectan a la salud, el comportamiento y el bienestar de los animales, que además influyen en los resultados de la investigación o pruebas experimentales (Genovese, 2012).

3.4 Principio de las tres R's como expresión de virtudes y valores

El principio del principio de las tres R's trae consigo una serie de ejercicios valóricos que pueden servir como modelos para el estudio de escenarios alternativos de solución de conflictos, además de aquellos inherentes a la experiencia de la ciencia humanitaria.

Esto ha llevado a sumarle otras res como responsabilidad, rentabilidad, reproducibilidad, reconocimiento, etc. (Cardozo *et al*, 2007).

3.4.1 Reemplazo: Esta regla pretende sustituir los animales de laboratorio por equivalentes no animales.

Esta es, la que seguramente ha sido más activa en estos últimos años a causa del aumento del número de activistas moderados e radicales y del aumento de la negativa científica al de animales. Hace falta remarcar que también ha sido muy determinante el crecimiento de alumnado para ciencias y medicina, con la cual cosa se ha optado por disminuir el número de animales utilizados y buscar nuevas alternativas (Boada *et al*, 2011).

3.4.2 Reducción: en el número de animales usados para obtener la información de una determinada cantidad y precisión (Lijteroff, 2010).

Para ello es necesaria la presencia de estudios estadísticos, ya que en muchísimas ocasiones se escoge un número de forma totalmente arbitraria sin saber justificar el porqué.

Los estudios estadísticos realizan un cálculo inverso, es decir, teniendo en cuenta la mortalidad que implica un determinado procedimiento por nuestra experiencia anterior, podemos averiguar el número de animales de los que hemos de partir (Boada *et al*, 2011).



3.4.3 Refinamiento: Disminución en la incidencia o severidad de procedimientos inhumanos (dolor y discomfort) aplicados a estos animales que tienen que ser utilizados (Lijteroff, 2010).

Hace falta reflexionar en que todo animal tiene sensibilidad y vive para seguir viviendo y sentir. Por lo tanto, lo peor que le puede ocurrir a cualquier animal es el sufrimiento físico y psicológico.

Se incorpora un **refinamiento** de los procedimientos, de modo que se disminuye el dolor o malestar de los animales, asegurando su bienestar, permiten una **reducción** en el número de animales necesarios, facilitan el **reemplazo** del uso de animales por sistemas que no requieren seres vivos (Carozo y Mrad, Sf).

El objetivo de estos métodos es cumplir con el principio de las tres R's propuesto por Russell y Burch (Cardozo y Mrad, Sf).

Los proyectos de investigación que requieren el uso de animales de laboratorio deben ser realizados con el número mínimo necesario de animales que permitan obtener resultados científicamente válidos.

El perfeccionamiento del diseño de los experimentos y la selección del modelo más adecuado, contribuyen al cumplimiento de este principio (Hernández, 2006).

En la actualidad todos los cursos y textos destinados a la formación en las ciencias de animales de laboratorio, incluyen las pertinentes lecciones sobre la ética en el manejo y utilización de los mismos.

Existe también una abundante literatura científica que desarrolla en profundidad el tema (Boada *et al*, 2011).





CAP. IV



MANEJO DEL BIOTERIO

4.1 Responsabilidades del personal encargado

4.1.1 Personal

4.1.1.1. Administrativo

4.1.1.2. Operativo

4.2 Bienestar animal

4.2.1 Medidas que contribuyen el bienestar

4.2.2 Estatuto moral de los animales

4.2.3 Ética en la Experimentación Animal

4.2.4 Normas Jurídicas de Nicaragua

4.2.5 Principios éticos internacionales para investigación biomédica con animales

4.2.6 Categorización de molestias o malestar inducido durante la fase de investigación

4.2.6.1 Categorización de la invasividad

4.2.7 Eutanasia

4.3 Alimentación y Abastecimiento de agua

4.3.1 Alimentación

4.3.1.1 Control Nutricional

4.3.2 Agua

4.4 Cría y Reproducción

4.4.1 Métodos de Apareamiento

4.4.2 Etapas de apareamiento

4.4.3 Ratones

4.4.4 Ratas

4.4.5 Conejos

4.5 Control sanitario e higiene

4.5.1 Limpieza y Desinfección

4.5.1.1 Encierros Primarios

4.5.1.2 Encierros Secundarios

4.5.2 Procedimientos de Saneamiento

4.5.3 Control de Plagas

4.5.4 Evaluación de la efectividad Sanitaria

4.5.5 Medicina Preventiva

4.5.6 Vigilancia, diagnóstico y control de enfermedades



Fuente: Bencomo *et al*, 2010

4.1 Responsabilidades del personal encargado

El número de personal y los requisitos que este debe reunir para trabajar en programas de cuidado de animales dependen de diversos factores que pueden variar en cada institución. Entre ellos figuran: la índole de la institución; sus dimensiones; la naturaleza de la estructura administrativa para el cuidado de animales; la naturaleza de la instalación material; el número y especie de los animales alojados, y la naturaleza de las actividades de enseñanza, ensayo o investigación (OPS, 1968)

El personal que trabaja en un bioterio de producción o de experimentación debe ser lo suficientemente capacitado, de acuerdo con las características de las instalaciones, número de animales mantenidos y la naturaleza de la investigación que se va a realizar. Es responsable de la atención y mantenimiento correcto de los animales asignados (Fuentes *et al*, 2008).

Dadas las características y la naturaleza del trabajo realizado por un Laboratorio de Control Nacional es importante destacar que todo el personal involucrado debe mantener confidencial las informaciones y resultados (García, 2009).

4.1.1 Personal

Cualquier persona que tiene la responsabilidad de mantener animales en cautiverio debe aplicar normas ejemplares de cuidado y de tratamiento humanitarios. El cuidado animal es una responsabilidad continua y diaria (García, 2009).

4.1.1.1 Administrativo:

♦ Jefe o director

El Jefe o el Director del cuidado para los animales, en los establecimientos grandes, es responsable del manejo de las instalaciones de cuidado animal (CCPA, 1998).

Encargada de manejar la cuenta cuando se cobren los animales de experimentación del bioterio. Apoya al Médico Veterinario (García, 2009).

Estar capacitado en una disciplina científica apropiada; tener una gran experiencia con diversas especies; comprender las exigencias de la investigación; y ser un administrador competente (CCPA, 1998).

Tiene la responsabilidad de asegurarse que los animales usados en la investigación, en la enseñanza y en las pruebas sean de alta calidad, y respondan a las exigencias de los investigadores o estudiantes.

En las instituciones pequeñas, las responsabilidades del "Director para el cuidado animal" pueden ser atribuidas sobre una base de tiempo parcial (CCPA, 1998).



4.1.1.2 Operativo:

◆ **Director de investigación:**

Coordinar la logística de operación del bioterio, reportar actividades y situaciones de emergencia, participar como miembro activo en el Comité para el uso y cuidado de animales de laboratorio, comunica el resultado de la evaluación del comité (CICUAL) a los Directores de Departamento (García, 2009).

◆ **Médico Veterinario Responsable:**

Responsabilidades generales

- a). Establecer un programa de prevención de las enfermedades
- b). Registrar las especies alojadas en el bioterio
- c). Cuidar a todos los animales enfermos
- d). Llevar registros de salud
- e). Registrar las rutinas de trabajo
- f). Tomar muestras sanguíneas o de tejidos para análisis de laboratorio
- g). Manejar las dosis y vías de administración de anestésicos, analgésicos, antibióticos y otros agentes terapéuticos propios para asegurar la salud y el cuidado humanitario de los animales.
- h). Debe asegurar que se conducen solamente métodos de eutanasia aprobados y que se ejecutan de manera adecuada.
- i). Mantener registros completos y precisos sobre todos los animales experimentales.
- j). Registrar la adquisición por compra o donación de animales / año y certificados de Salud.

- k). Elaborar los informes anuales
- l). Elaborar el programa permanente de capacitación del personal del bioterio
- m). Participar como miembro activo en el comité para el uso y cuidado de animales de laboratorio
- n). La información siguiente se registra para cada animal:

- ◆ Fecha de llegada,
- ◆ Sexo, edad y peso estimados,
- ◆ Raza, color y
- ◆ Cualquier anomalía física u otra característica de identificación.
- ◆ El nombre del proyecto o del investigador y cualquier instrucción especial sobre su cuidado,
- ◆ Número del protocolo que le está asignado,
- ◆ Método de disposición eventual.

Los registros de los animales deben guardarse por un período de un año después del sacrificio de los animales (García, 2009).

Cuarentena/acondicionamiento

El veterinario examinará a todos los animales que lleguen, para averiguar señales evidentes de enfermedades que puedan haber sido exacerbadas por el estrés del transporte; la prevención de contaminación cruzada entre animales de fuentes diferentes; y la comprobación de que la entrega corresponde al pedido (García, 2009).



El veterinario tendrá la responsabilidad de asegurarse que los animales que aparecen enfermos, o que han sido debilitados durante el transporte, se separen del resto para observación y tratamiento. Cuando eso no sea factible, se realizará la eutanasia de estos animales enseguida (García, 2009).

Según la especie, el origen, etc., la cuarentena deberá incluir tratamientos de rutina contra parásitos internos y externos y la provisión de agua y alimentos limpios.

Las pruebas serológicas son importantes para controlar las características epidemiológicas de las infecciones de una colonia (García, 2009).

♦ **Profesor - investigador**

El profesor - investigador debe conocer las características, el cuidado y la manipulación de la especie animal que usa y debe comprometerse en seguir las directrices relativas al cuidado y uso ético de los animales

El investigador es el primer responsable para la prevención del dolor y del malestar durante la experimentación (García, 2009).

♦ **Personal para el cuidado animal**

El personal de apoyo está en una posición privilegiada para asegurar una alta calidad del cuidado para los animales y el éxito de una experimentación, a través de su dedicación y del desenvolvimiento diario de sus tareas (CCPA, 1998).

El personal de apoyo que trabaja con los animales puede encargarse de su mantenimiento diario, o ejecutar procedimientos experimentales sencillos, o una combinación de ambos.

Es importante que estas personas sean hábiles y concienzudas, porque el bienestar de los animales y el éxito de las experimentaciones dependen de ellas (CCPA, 1998).

♦ **Auxiliar del Médico Veterinario responsable:**

Limpieza y desinfección de pisos y paredes del bioterio

Lavado de jaulas de los animales

Cambio de jaula, viruta, alimento y agua a los animales del bioterio

Limpieza almacén

Recolección y disposición de la basura común (García, 2009).

Cada puesto de trabajo tiene que tener una descripción de cargo en la que se incluya: puesto, funciones y responsabilidades, formación académica exigida y experiencia necesaria (OMS, 1999).

4.2 Bienestar animal

Es un estado de completa salud mental y física, donde el animal está en perfecta armonía con el ambiente que le rodea. El investigador debe ser el primer valedor del bienestar del animal (Maruri y Gonzáles, 2009).



La *American Veterinary Medical Association* (AVMA) plantea que “todos los aspectos de bienestar animal incluyen el alojamiento apropiado, el manejo, la alimentación, el tratamiento y la prevención de enfermedades, el cuidado responsable, la manipulación humanitaria y cuando sea necesaria la eutanasia humanitaria” (Maruri y González, 2009).

El uso de animales en la investigación, enseñanza y pruebas, es aceptable solamente si contribuye en forma efectiva a la mejor comprensión de principios biológicos fundamentales o al desarrollo de conocimientos que razonablemente, podemos esperar que beneficien a los seres humanos o a los animales (CCPA,1998).

4.2.1 Medidas que contribuyen al bienestar:

- ◆ La estructura de la institución y de las áreas o departamentos donde se utilicen animales de laboratorio
 - ◆ Líneas de autoridad y responsabilidad para administrar y asegurar el cumplimiento de los programas de mantenimiento, cuidado y salud de animales
 - ◆ La calificación, autoridad y responsabilidad del veterinario que participa en los programas y el porcentaje de tiempo que aporta
 - ◆ La constitución de un Comité Institucional de Ética para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CIEQUAL)
- ◆ Los procedimientos que seguirá el CIEQUAL para cumplir con los requisitos establecidos en el programa
 - ◆ El programa de salud para el personal que trabaja en las instalaciones de animales o que tiene contacto frecuente con éstos
 - ◆ El entrenamiento o la instrucción en el uso y cuidado de animales, así como la aplicación de métodos que reduzcan el número de animales requeridos para obtener resultados validos o que limiten su sufrimiento
 - ◆ Las medidas de superficie de cada instalación, las especies alojadas y el porcentaje de inventario por especies
 - ◆ Los factores presentes en el ambiente pueden ser de naturaleza física, química o biológica, los más comunes (algunos propios sólo de ambientes primarios) pueden ser:
 - ◆ Factores o agentes químicos: NH₃, CO₂, agentes naturales y artificiales
 - ◆ Físicos: temperatura, humedad relativa, ruido, iluminación, ventilación y cama
 - ◆ Biológicos: microorganismos, otros animales, densidad, poblacional, patologías, genético (Maruri y González, 2009).



El estado general del animal es importante no sólo desde el punto de vista de bienestar animal, sino que contribuye a la obtención de resultados experimentales más confiables, con menor variabilidad y mayor reproducibilidad (Feinstein, 1996, citado por Vega, 2002).

4.2.2 Estatuto moral de los animales

El ser humano está genéticamente capacitado para prever las consecuencias de sus actos, para hacer juicios de valor y distinguir el bien del mal, eligiendo libremente hacer lo uno o lo otro, es decir, es un sujeto que puede obrar correctamente acorde con sus principios y valores y puede expresar y ganar autonomía y capacidad de autodeterminación (Cardozo *et al*, 2007).

Entre sus preocupaciones están el amor a la naturaleza, la defensa medioambiental y la preocupación por la biodiversidad y la bioseguridad.

Desde el punto de vista bioético, aunque los animales, por si mismos, no son sujetos de derechos ni de responsabilidades, las personas si tenemos responsabilidades hacia ellos; los animales no son sujetos morales, pero si objetos de la consideración humana (Cardozo *et al*, 2007).

4.2.3 Ética en la Experimentación Animal

Es parte de la ética el trato humanitario en animales de laboratorio siendo esto todas las maniobras, métodos y actitudes del personal e investigadores a cargo del cuidado de los animales de laboratorio que cumplen con las disposiciones legales nacionales e internacionales de los derechos del animal (INTA, Sf).

Cualquier violación a la Ley Nacional 747, de las Normas Jurídicas de Nicaragua, ley para la protección y el bienestar de los animales domésticos y animales silvestres domesticados; derechos internacionales de los animales (aprobados por la ONU y la UNESCO) y la OMS (Principios para el uso de animales de experimentación basados en las Guías internacionales para la investigación médica, The council por internaciona organization of animal sciences - OMS 1985, será considerado trato NO HUMANITARIO y conducirán a las penalizaciones correspondientes (INTA, Sf).

Derechos de los animales: una corriente de pensamiento fuertemente defendida por el filósofo Tom Regan (2003). Según esta, los individuos tienen valor inherente. El fin no puede justificar el violar los derechos de los individuos ya que, por el solo hecho de estar vivos, merecen respeto, sea cual sea su condición o el fin que se persiga (Cardozo *et al*, 2007).



4.2.4 Normas Jurídicas de Nicaragua

Ley No. 747. Ley para la protección y el bienestar de los animales domésticos y animales silvestres domesticados.

Aprobada el 11 de mayo del año 2011.
Publicada en la Gaceta No. 96 del 26 de mayo del 2011

La Asamblea Nacional

Capítulo I

DISPOSICIONES GENERALES

Art. 1 La presente ley tiene por objeto establecer las regulaciones para la protección y el bienestar de los animales domésticos y animales silvestres domesticados, que se encuentren cohabitando con los seres humanos.

Art. 4 Las disposiciones de esta ley son de orden público e interés social y se aplicarán en relación a aquellos animales domésticos y animales silvestres domesticados utilizados por la población para:

- ♦ Compañía
- ♦ Mascotas
- ♦ Asistencia
- ♦ Comercio
- ♦ Alimentación
- ♦ Terapia medicinal
- ♦ Transporte
- ♦ Recreación

- ♦ Espectáculos o Competencias
- ♦ Fines educativos
- ♦ Fines de investigación y experimentación
- ♦ Otras actividades afines

Art. 7 El Bienestar Animal, además de considerar el estado de salud mental y física donde el animal esté en completa armonía con el ambiente que lo rodea, deberá también considerar cinco libertades fundamentales que lo complementan:

- ♦ Estar libre de hambre y sed: lo que se logra brindando una dieta satisfactoria, apropiada y segura, así como acceso al agua fresca
- ♦ Estar libre de incomodidad y molestias: creando un ambiente apropiado que incluya refugios y área de descanso confortable
- ♦ Estar libre de dolor, lesiones y enfermedades: previniendo o diagnosticando rápidamente y haciendo uso del tratamiento adecuado
- ♦ Estar libre de expresar un comportamiento normal: asegurando suficiente espacio e instalaciones apropiadas y compañía de la misma especie
- ♦ Estar libre de miedo y sufrimiento: proveer condiciones y cuidados que eviten el miedo innecesario, el estrés o sufrimiento



Capítulo III DE LA AUTORIDAD COMPETENTE

Art. 11 El Ministerio Agropecuario y Forestal y los Gobiernos Municipales, serán las autoridades competentes para la aplicación de la presente Ley, con la colaboración de la Policía Nacional y el Ejército de Nicaragua.

El Ministerio del Medio Ambiente y de los Recursos Naturales, el Ministerio de Salud, el Ministerio de Educación y la Procuraduría General de la República, apoyarán, en el ámbito de su competencia, en la aplicación de esta Ley.

La Policía Nacional actuará de oficio ante el evidente maltrato de cualquier animal, ya sea doméstico o silvestre en cautiverio, procediendo a decomisar al animal maltratado, dando a conocer a lo inmediato de todas sus diligencias a la autoridad competente para proceder conforme a lo establecido en esta Ley.

Capítulo IV DE LA PROTECCIÓN Y EL BIENESTAR ANIMAL

Sección VII

De la Experimentación e Investigación

Art. 42 El uso de animales domésticos o animales silvestres domesticados para experimento o investigación que se lleven a cabo con fines de estudios y avances de la ciencia, serán autorizados, siempre y cuando se demuestre que:

- ◆ Los experimentos serán realizados bajo la supervisión de una institución de educación superior o de investigación reconocida oficialmente y que la persona que dirige el experimento cuente con los conocimientos y la acreditación necesaria
- ◆ Los resultados experimentales deseados no puedan obtenerse por otros procedimientos o alternativas
- ◆ Las experiencias sean necesarias para el control, prevención, diagnóstico o tratamiento de enfermedades que afecten al ser humano o al animal
- ◆ Los experimentos no puedan ser sustituidos por esquemas, dibujos, películas, fotografías, videocintas, materiales biológicos o cualquier otro procedimiento análogo

Art. 43 Durante el proceso de investigación o experimentos se debe garantizar el bienestar del animal, y si por consecuencia de la investigación el animal sufriera enfermedad o lesión incurable, deberá aplicarse la eutanasia de inmediato conforme a los procedimientos establecidos por el reglamento de esta Ley.

Ningún estudiante podrá ser obligado a realizar prácticas que impliquen maltrato o crueldad con los animales.

Ninguna persona natural o jurídica puede vender o donar animales para que se realicen experimentos o investigación en ellos.



Art. 44 El Ministerio Agropecuario y Forestal, está obligado a supervisar las condiciones y desarrollo de los experimentos o investigación en animales. Cualquier acto violatorio que recaiga en contra de lo dispuesto en esta Ley será debidamente sancionado (Núñez y Navarro, 2011).

4.2.5 Principios éticos internacionales para investigación biomédica con animales

Estos principios son considerados como un referente de obligatorio cumplimiento para el trabajo con modelos animales experimentales. Aceptan la utilización de animales en experimentación, pero en condiciones que justifiquen su uso y garanticen su protección y cuidado con referentes de excelencia y rigor (Cardozo y Mrad, Sf)

◆ Principios

El avance del conocimiento, la protección de la salud y/o el bienestar de los hombres y los animales requiere la experimentación con animales vivos. Siempre que sea posible, usar métodos alternativos (Tovar, 2010).

Los animales no se deben someter a angustia o dolor innecesarios. La técnica experimental debe asegurarles toda la protección posible, ya sea para investigación, enseñanza o para pruebas; el costo y la conveniencia no deben tener precedencia sobre el bienestar físico y mental del animal (CCPA, 1998).

Realizar experimentación en animales después de estudiar su relevancia para la salud humana y animal y para el avance del conocimiento biológico (Cardozo y Mrad, Sf).

Seleccionar animales de especie y calidad apropiada y usar el mínimo número requerido para obtener resultados científicamente válidos. Tratar a los animales como seres sensibles y considerar imperativo ético el cuidado y uso adecuado, evitando o minimizando las molestias, la angustia y el dolor (Tovar, 2010).

Si el dolor o la angustia son necesariamente parte del estudio, se deben minimizar tanto en intensidad como en su duración (CCPA, 1998).

No realizar procedimientos quirúrgicos o dolorosos en animales no anestesiados o paralizados con agentes químicos (Cardozo y Mrad, Sf).

Un animal en estado de dolor severo que no puede ser aliviado debería ser inmediatamente destruido, usando un método que produzca una inconsciencia rápida (CCPA, 1998).

Los animales mantenidos con fines biomédicos, deben tener las mejores condiciones de vida posibles, de preferencia con supervisión de veterinarios con especialización en ciencia de animales de laboratorio (Tovar, 2010).



4.2.6 Categorización de molestias o malestar inducido durante la fase de investigación

Con el fin de poder proceder a la aplicación de principios universales para el buen manejo de los animales de laboratorio se han establecido categorías para clasificar las molestias que se pueden generar durante la fase de experimentación, las cuales deben ser cuidadosamente observadas, se resumen en la siguiente tabla:

Tabla 11. Categorización de molestias durante la fase de investigación

Molestias menores	Toma de muestra de sangre Examen rectal Toma de muestra de flujo vaginal Administración forzada de sustancias inocuas Experimentos terminales bajo anestesia Vacunas coadyuvantes Toma de radiografías en animales no anestesiados
Molestias moderadas	Toma frecuente de muestras de sangre Prueba de pirógenos Cateterización y canulación Uso de yesos o inmovilización Cesárea Recuperación de anestesia general Inmunización sin adyuvantes completos Trasplantes de piel
Molestias severas	Extracción de fluido ascítico Sangría total sin anestesia Previa inducción de defectos genéticos Deprivación prolongada de comida, agua o sueño Pruebas de dosis letal 50 y concentración letal 50 Inmovilización con relajantes sin sedación Inducción de infecciones experimentales Pruebas de carcinogenicidad con producción de tumores Inducción de convulsiones

(Cardozo y Mrad, Sf)



4.2.6.1 Categorización de la invasividad

Se ha establecido también una categorización de la invasividad en los procedimientos experimentales, que permiten que tanto el investigador como el comité de ética establezcan necesidades de formación o entrenamiento de los operadores, estudiantes o investigadores;

asesoría al grupo o miembros del equipo de investigación; definición de procedimientos, operacionales estandarizados o procedimientos alternativos o complementarios; acompañamiento y supervisión durante la realización de los ensayos, los cuales deben ser expresamente declarados para efectos de la aprobación del protocolo de investigación:

Tabla 12. Categorización de la invasividad

Categoría A	Experimentos realizados en invertebrados o células/tejidos aislados
Categoría B	Experimentos que causan nulo o mínimo estrés o molestia
Categoría C	Experimentos que causan leve estrés o dolor de corta duración
Categoría D	Experimentos que causan de moderado a severo malestar o molestia
Categoría E	Procedimientos que causan dolor severo o al límite de tolerancia en animales conscientes

(Tovar, 2010).

4.2.7 Eutanasia

Siempre se debe tener en cuenta que el sacrificio de un animal debe realizarse con el menor sufrimiento físico y psíquico posible. Puede ser ordenado por el veterinario responsable si el dolor o las molestias no pueden ser aliviados con sedantes o analgésicos. No deben de ser sacrificados delante del resto de los otros animales (Boada *et al*, 2011).

Tabla 13. Aplicación de los agentes y métodos de eutanasia por especie

ANIMALES	MÉTODOS RECOMENDADOS	ACEPTADOS CONDICIONALMENTE
Roedores	Anestésicos inhalables, CO ₂ , Ar, N ₂ irradiación con microondas, barbitúrico	N ₂ , Ar, dislocación cervical, decapitación, exanguinación
Conejos	Anestésicos inhalables, CO ₂ , barbitúricos	N ₂ , Ar, dislocación cervical, decapitación, perno cautivo penetrante, exanguinación

Ochoa, 2001



Tabla 14. Agentes y método de eutanasia prohibidos

AGENTE	COMENTARIO
Descompresión	No es un método aceptado porque puede ocurrir la recompresión, muchas cámaras no son apropiadas, los animales inmaduros requieren prolongadas exposiciones y puede causar efectos desagradables en los observadores
Congelamiento instantáneo	No se considera humanitario cuando se usa como único método. Sólo se acepta en animales anestesiados
Embolismo gaseoso	Sólo se permite en animales anestesiados ya que puede estar acompañado de convulsiones, opistótonos y vocalizaciones
Ahogamiento	No se considera humanitario; no se acepta
Estricnina	No se acepta porque causa convulsiones violentas y dolorosas contracciones musculares
Agentes curariformes, sulfato de magnesio, clorato de K y nicotina	No son aceptables porque no causan inconsciencia antes de la muerte, la cual ocurre por asfixia
Cloroformo	No se acepta por el riesgo que implica para las personas, es hepatotóxico y probablemente cancerígeno
Cianuro	No se acepta por el sumo peligro que representa, además la forma en que muere el animal causa un efecto desagradable en los observadores
Contusión	Aun cuando puede causar inconsciencia en el animal, no se considera un método de eutanasia

Ochoa, 2001

4.3 Alimentación y Abastecimiento de agua

Todos los animales de laboratorio deben tener diariamente acceso a la alimentación según sus necesidades. La comida debe estar limpia y libre de contaminantes, y ser agradable y suficientemente nutritiva. Debe proporcionarse en cantidades adecuadas para lograr el crecimiento normal en animales que no han llegado a la madurez, y para mantener el peso normal en los adultos (OPS, 1968)



4.3.1 Alimentación

Los animales deben recibir alimento en cantidad y calidad suficiente para sus necesidades y para conservar la salud. El acceso al alimento debe ser libre y dosificado de acuerdo con los requerimientos, así cuando los animales se albergan en grupos, debe haber suficientes puntos de alimentación para minimizar la competencia por el alimento y asegurar que todos los animales tengan acceso al alimento (Fuentes *et al*, 2008).

Estos deben ser alimentados con dietas apetitosas, no-contaminadas y nutricionalmente adecuados, diariamente o de acuerdo a sus requerimientos particulares, a menos que el protocolo en el que están siendo empleados lo demande de otra manera. Los subcomités de nutrición del *National Research Council Committee* han preparado documentos completos acerca de los requerimientos nutricionales de los animales de laboratorio (ILAR, 2008).

Los gerentes de las colonias de animales deben emplear su buen juicio al comprar, transportar, almacenar y manipular los alimentos para reducir al mínimo la introducción de enfermedades, parásitos y vectores potenciales de enfermedades (ej., insectos y otras plagas) y contaminantes químicos a las colonias animales (INTA, Sf).

El alimento para todas las especies debe cumplir con las siguientes características:

- ◆ Debe estar libre de aditivos, drogas, hormonas, antibióticos, pesticidas y contaminantes
- ◆ Debe estar dentro de su periodo de caducidad
- ◆ Almacenado en bodegas o cuartos desinfectados, secos y ventilados, sobre tarimas o en contenedores (Ochoa, 2001).

Una buena calidad de leguminosas o de vegetales apropiados (zanahorias, repollo, etc.) son buenos suplementos disponibles en el comercio para conejos. Se cree que los conejos prefieren la comida comercial en forma de comprimidos más que alimentos preparados, y que necesitan más fibras que otras especies (Adams, 1987, citado por CCPA, 1998).

4.3.1.1 Control Nutricional

Las áreas en las que se almacenan o procesan los ingredientes de las dietas deben mantenerse limpias y cerradas para evitar la entrada de pulgas. Los alimentos no deben almacenarse en el piso sino en tarimas, estantes o carros.

Los sacos abiertos en tanto no se usen ya, deben guardarse en contenedores a prueba de pulgas para reducir al mínimo la contaminación y temperaturas superiores a los 21 °C, humedades relativas extremas, condiciones insalubres, luz, oxígeno, insectos y otras plagas (Peralta, 2012).



Las dietas disponibles comercialmente para mascotas no son las indicadas para la nutrición adecuada de los animales de experimentación. Ello requiere un cuidadoso estudio, más aún si los animales serán sometidos a procedimientos que requieran cambios metabólicos o nutricionales como parte del ensayo (Cardozo *et al*, 2007).

El alimento se suministra diariamente; se incrementará los días que se considere necesario por razones de fuerza mayor (Fuentes *et al*, 2008).

Esquema 5. Dieta de cría y mantenimiento para la rata de laboratorio



DIETA DE CRÍA

- Humedad (%)
 - 11,60
- Proteína (%)
 - 20,39
- Fibra (%)
 - 4,10
- Grasa (%)
 - 4,40
- Minerales (%)
 - 6,30
- Calcio (ppm)
 - 6,30
- Fósforo (ppm)
 - 6000
- Almidón (ppm)
 - 37,20



DIETA DE MANTENIMIENTO

- Humedad (%)
 - 12,20
- Proteína (%)
 - 15,70
- Fibra (%)
 - 4,00
- Grasa (%)
 - 3,10
- Minerales (%)
 - 5,50
- Calcio (ppm)
 - 8800
- Fósforo (ppm)
 - 5900
- Almidón (ppm)
 - 44,20

George J. Krinke 1998, citado por Peralta, 2012

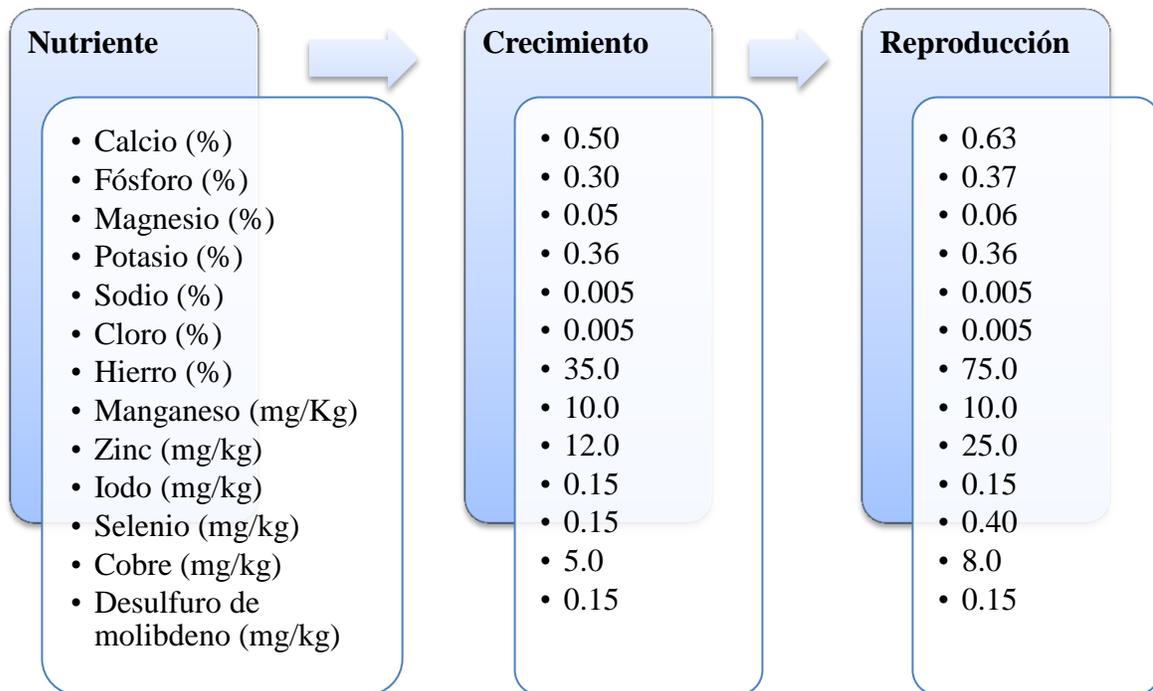
Esquema 6. Requerimiento estimado de vitaminas para ratas

Vitaminas	Crecimiento	Reproducción
Vitamina A (IU/kg)	2300	2300
Vitamina D (IU/kg)	1000	1000
Vitamina E (IU/kg)	27.0	27.0
Vitamina K (mg/kg)	1.0	1.0
Tiamina-HCl(mg/kg)	4.0	4.0
Rivoflavina (mg/kg)	3.0	4.0
Niacina (mg/kg)	15.0	15.0
Ácido Pantoténico (mg/kg)	8.8	8.0
Vitamina B6 (piridoxina) (mg/kg)	6.0	6.0
Ácido fólico (mg/kg)	1.0	1.0
Vitamina B12 (mg/kg)	0.05	0.05
Biotina (mg/kg)	0.2	0.2
Colina (base libre)(mg/kg)	750	750

George J. Krinke 1998, citado por Peralta, 2012



Esquema 7. Requerimiento estimado de minerales para ratas



George J. Krinke 1998, citado por Peralta, 2012).

El alimento no debe ser expuesto a temperaturas por encima de 25 °C, humedades relativas mayores a 60%, condiciones insalubres, luz, oxígeno, insectos y roedores, porque ello aumenta el deterioro y la contaminación (Fuentes *et al*, 2008).

4.3.2 Agua

Todos los animales de laboratorio deben tener diariamente acceso al agua según sus necesidades. De ordinario, deben disponer de agua potable en cualquier momento (OPS, 1968).

Los utensilios para dar de beber, tales como las pipetas de los bebederos y las válvulas automáticas, se deben revisar diariamente para verificar un adecuado mantenimiento, limpieza y operación. En ocasiones, los animales tienen que ser entrenados a utilizar los componentes de los sistemas de provisión automática (INTA, Sf).

Debe hacerse un recambio adecuado para evitar la aparición de contaminantes, puesto que, al beber, el animal introduce saliva y restos de comida, y, con ello, bacterias que pueden contaminar agua (Cardozo *et al*, 2007).



Los métodos disponibles para eliminar las contaminaciones microbiana y química incluyen la acidificación, la cloración, la ósmosis inversa, la ultrafiltración y los rayos ultravioletas (UV) (Newell, 1980, citado por CCPA, 1998).

Algunos de estos métodos pueden alterar la función inmunitaria (Herman, White y Lang, 1982; Fidler, 1977) y el crecimiento en los animales de experimentación (Hall, White y Lang, 1980; Tober-Meyer, Bieniek y Kupke, 1981). Sin considerar si el agua de abastecimiento está tratado o no, todo el equipo que distribuye el agua debe limpiarse completamente según los SOP, y ser periódicamente controlado para contaminantes bacteriológicos (CCPA, 1998).

Puede ser necesaria la determinación periódica del pH, dureza y contaminación química y microbiológica para asegurar que la calidad del agua sea aceptable, especialmente si los componentes normales del agua de una localidad dada pudiera influir en los resultados de estudio (Cardozo *et al*, 2007).

Las pipetas de bebederos y válvulas automáticas en buen estado, cambiarlos en lugar de rellenar las mamaderas, debido a la potencial contaminación microbiológica cruzada (Genovese, 2012).

Los frascos de bebida deberán ser lavados y desinfectados por lo menos una vez por semana, los picos serán observados y lavados con cepillo periódicamente para evitar el taponamiento (Fuentes *et al*, 2008).

Tabla 15. Parámetros fisiológicos y nutricionales

Especies	Temperatura rectal °C ± 0.5	Ritmo respiratorio/promedio y (rango)	Ritmo cardiaco/promedio y (rango)	Consumo diario promedio de agua	Excreción de orina/día	Recomendaciones para alimentación/día	Proteínas digeribles %
Ratón	37.5	138 (94-163)	470 (325-780)	3-7 ml	1-3 ml	3-6 g	12
Rata	37.0	92 (70-115)	350 (250-450)	20-45 ml	10-15 ml	10-20 g	12
Conejo	39.0	40 (32-60)	260 (130-325)	80-100 ml/kg pv	50-90 ml/kg pv	75-100 g	14

pv: peso vivo (CCPA, 1998)



4.4 Cría y Reproducción

Para la cría y reproducción se han establecidos distintos métodos de apareamiento.

4.4.1 Métodos de apareamiento

El sistema elegido dependerá de los hábitos de la especie y del tipo de cría requerida (Cardozo *et al*, 2007).

Pares monogámicos: consiste en albergar juntos una hembra y un macho en forma permanente. Este método facilita el sistema de registros y permite aprovechar el estro posparto cuando éste ocurre. Es un método más costoso en espacio, trabajo y materiales (Cardozo *et al*, 2007).

Harenes: Un macho se coloca junto con dos o más hembras. Es un método que ahorra machos, pero dificulta los registros. Pueden emplearse dos sistemas:

- ◆ Harén permanente: el grupo se mantiene junto durante su vida reproductiva y se aprovecha el estro posparto, pero se dificultan registros detallados y hay riesgo de sobrepoblación
- ◆ Retiro de la jaula: las hembras grávidas son retiradas a cajas separadas en el último periodo de gestación, para facilitar los registros. Se evita la sobrepoblación, pero se pierde la posibilidad de aprovechar el estro posparto (Cardozo *et al*, 2007).

4.4.2 Etapas de apareamiento

Para proceder al apareamiento se organizaran en cuatro etapas

Etapa 1. Establecimiento del patrón de identificación en cada espécimen

Todos los especímenes incluidos en la investigación se les asignan un código único cuya estructura está determinada por una letra y dos dígitos. El primer carácter correspondía a la letra mayúscula *H* o *M* que designaba el sexo del espécimen; los dígitos que acompañaban la letra indicaran el orden en que fueron rotulados (Mendoza *et al*, 2013).

Para la identificación visual de las hembras, se dibuja un carácter gráfico en la cola; de esta forma un símbolo relaciona cada animal con su código único. El patrón gráfico está compuesto por líneas realizadas con marcador permanente.

En los machos, por ser más sensibles a estímulos olfatorios, se omite la simbolización gráfica de los mismos en el cuerpo; para su identificación se asigna a cada jaula un rótulo que contiene el código de cada uno (Mendoza *et al*, 2013).

Etapa 2. Formación de grupos de apareamiento

Se utiliza el sistema reproductivo poligámico o harén. Durante el día, los machos permanecen en jaulas individuales y las hembras se agruparon en cuatro jaulas; en subgrupos de cinco y seis (Mendoza *et al*, 2013).



Los apareamientos se planifican para las horas de oscuridad, de tal forma que a partir de las 7 p. m. se tienen seis cubículos nocturnos de reproducción, correspondientes a cada uno de los machos.

En el plantel de apareamiento, conocido como harén las hembras, se trasladan a las jaulas de los machos. En el protocolo diseñado, tres hembras se trasladaran a cada jaula de los machos (Mendoza *et al*, 2013).

Pasadas ocho horas, se procederá a la revisión del área genital en las hembras, para determinar presencia de tapón mucoso vaginal; quienes lo presentan, son llevadas a jaula individual.

Aquellas hembras a las que no se evidencia presencia del tapón, se devuelven a sus jaulas, pues la cópula se consideraba infructuosa (Mendoza *et al*, 2013).

Al completar un ciclo de seis días donde todos los machos son rotados con hembras distintas, se otorga dos días de receso al proceso de apareamiento, tiempo tras el cual se reanudarán las actividades según lo descrito (Mendoza *et al*, 2013).

Etapa 3. Evidencia de tapón mucoso vaginal y aislamiento

La evidencia de tapón mucoso en el introito vaginal de la hembra se considera el parámetro decisivo para apareamiento exitoso. Se determina observar el área genital de la hembra en la mañana, pasadas las ocho horas de contacto nocturno con el macho.

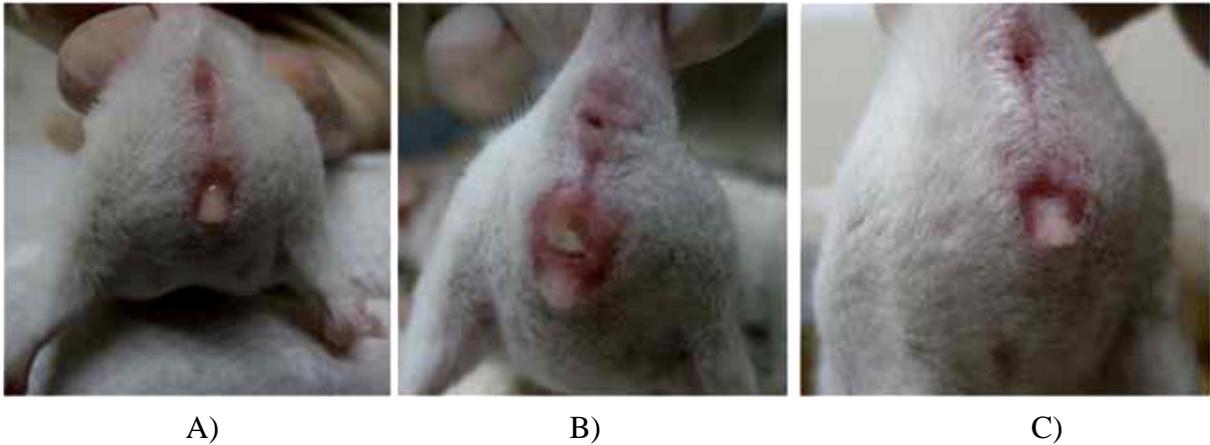
Para reconfirmación de preñez se tiene en cuenta otras dos características: a) cambios en comportamiento, visualizados como “nidación” a partir del día seis, y b) cambios físicos, abultamientos laterales en la región abdominal y palpación fetal, caracteres que se hacen evidentes aproximadamente al día doce de la gestación (Mendoza *et al*, 2013).

Se observa la presencia de abultamientos laterales en la región abdominal. La palpación de dichas masas móviles y el incremento significativo de peso, acompañado de cambios comportamentales en el animal, confirman la preñez.

Una vez identificado el tapón se procede a aislar a la hembra en jaula individual, rotulada con código de la hembra, fecha (dd/mm/aa) y hora de su visualización (Mendoza *et al*, 2013).



Figura 33. Visualización de tapón vaginal como evidencia de apareamiento



De izquierda a derecha se observa la consolidación del tapón mucoso en el tiempo. A) Se evidencia un tapón vaginal de consistencia laxa, en proceso de consolidación dentro del introito vaginal. B) Al transcurrir tres horas se vuelve consistente mostrando un aspecto sólido. C) Tras seis horas, se evidencia su reabsorción casi completa (Mendoza *et al*, 2013).



Figura 34. Caracteres físicos de la preñez en una hembra con quince días de gestación
Fuente: Mendoza *et al*, 2013

Etapa 4 verificación de edades embrionarias y fetales

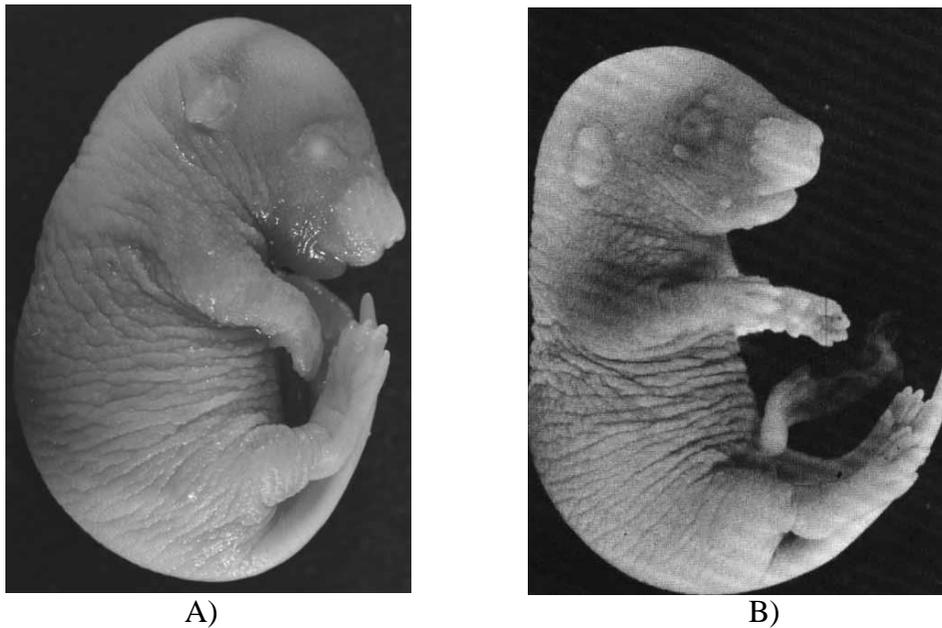


Figura 35. Verificación de edades embrionarias

A) Corresponde a un feto en estadio E17 obtenido de las hembras gestantes; B) Estadio 25, equivalente a día embrionario 17, según Karl Theiler citado por Mendez, 2013.

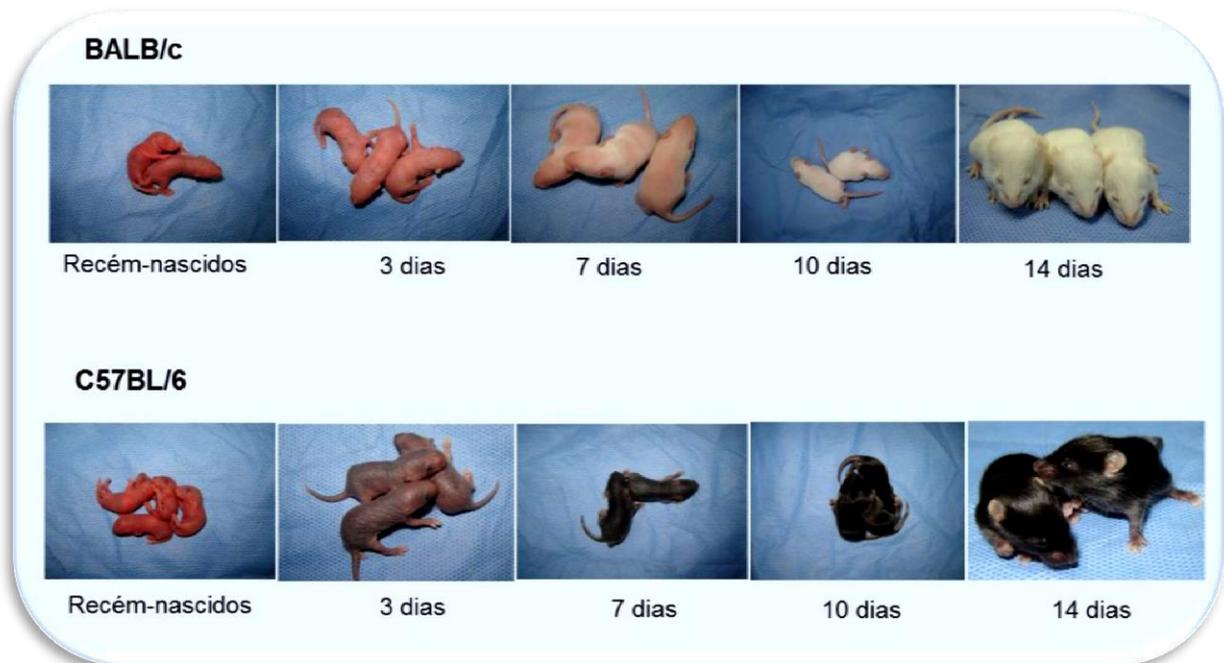


Figura 36. Perfil de desenvolvimiento de roedores

Fuente: Neves *et al*, 2013



A)



B)

Figura 37. Diferenciación de sexo en roedores de diferentes categorías

A) Neonatos de roedores con un día de vida: macho a la derecha y hembra a la izquierda

B) Roedores recién destetados: macho a la izquierda y hembra a la derecha

Fuente: Neves *et al*, 2013

4.4.3 Ratones

Cuando las hembras de estos animales se agrupan en grandes cantidades en ausencia de machos, se produce el período de anestro, entrando nuevamente en actividad tres o cuatro días después de introducir a los machos, cubriéndose rápidamente el 50% del efectivo.

Este hecho se conoce con la específica denominación de “efectivo Witten”, y puede ser aprovechado por criadores para obtener gestaciones masivas, en ocasiones de gran interés industrial. La aparición de estos después del parto en plazo breve puede ser igualmente aprovechado, positivamente, para periodos de descanso (Vega, 2002).

Aunque excepcionalmente se presenta en los ratones hembras el fenómeno denominado “pseudogestación”, que es cuando se alojan en grupos y se suspende por ello el ciclo estral unos quince días. Otro fenómeno que interesa tener en cuenta para regular la cría de estos roedores es el denominado “efecto Bruce”.

Esencialmente consiste en la absorción del embrión, lo que puede disminuir la producción, este curioso fenómeno ha motivado la comprobación de hechos relacionados con la presencia de feromonas. El efecto Bruce se da con mayor frecuencia en las crías consanguíneas, por el hecho de que los machos de estas líneas producen mayor cantidad de estos olores específicos (Vega, 2002).

4.4.4 Ratas

En estos animales la ovulación se produce espontáneamente y la presencia de luz tiene cierta importancia en la regulación del ciclo sexual.

Es bastante más acusado el instinto maternal en las ratas que los ratones, por lo que apenas si existe el canibalismo sobre todo en las estirpes selectas; incluso las madres aceptan crías de otras especies (ratones y meriones), lo que facilita la obtención de animales SPF. No es frecuente aprovechar en estos roedores el estro post-partum.

Lo más corriente es mantener tres o más con cada macho, separando a éstas en cuanto se diagnostica el periodo de gestación para mantenerlas apartadas en jaulas individuales, con facilidades para realizar cómodamente el parto y posterior cuidado de las crías. Este sistema de apareamiento no es realizable cuando se trata de líneas consanguíneas, en que se recomienda aparear, independientemente, cada hembra con su correspondiente macho en forma permanente (Vega, 2002).

4.4.5 Conejo

Por el hecho de que estos animales son principalmente explotados para producir carne, los sistemas de producción se encuentran ampliamente estudiados y difundidos en tratados específicos. En cuanto a los específicamente de laboratorio, el conejo es de los pocos animales en que se sigue manteniendo de raza como unidad de manejo (Vega, 2002).

En la actualidad se mantiene en los animalarios varias de éstas, incluso para ser utilizadas en experimentación. Estos fueron, junto a los ratones, los primeros animales que los científicos aprovecharon en calidad de reactivos biológico.

De entre las razas más utilizadas para estos fines se destacan las siguientes: Nueva Zelanda, con un peso entre 4 y 6 kg, de reconocida docilidad, fácil reproducción y manejo y con uniformidad durante las pruebas experimentales, la Gigante de Flandes, preferida para la obtención de sueros inmunológicos, California (presenta diversas zonas pigmentadas en negro sobre fondo albino) y la Holandés, se utiliza bastante como animal de experimentación, entre otras cosas por su pequeño tamaño y también ante las contaminaciones ambientales (Vega, 2002).

En ocasiones llegan a arrancarse a mordiscos los testículos. La producción normal de estas razas suele ser de 16 a 25 crías por hembra en un año, distribuidas en 5 partos (Vega, 2002). Trabajando en pequeñas colonias no es difícil intensificar los índices de consanguinidad, pero no debe olvidarse que esto puede resultar perjudicial para una cría racional.

La posible introducción en la producción de conejo de las técnicas de inseminación artificial, transplantes de óvulos, alimentación mecanizada, etc., ensayadas con éxito en cría industrial, está facilitando la cría de estos animales con diversos fines y, con ello, las líneas de investigación en que pueden ser útiles (Vega, 2002).



Tabla 16. Datos sobre crianza y reproducción

Especies	Edad reproducir h/m	Ciclo duración (días)	Duración de la receptividad sexual	Comportamiento reproductivo y estación	Duración media de gestación (días)	Tamaño de la camada	Capacidad reproductiva óptima	Hora de iluminación
Ratón	6 semanas	4 – 5 P	10 – 20 horas	H (1 por 4)	20	6-12	7-8 meses	14
				Año entero	19-21			
Rata	10 – 12 semanas	4 – 5 P	10 – 20 horas	H (1 por 6)	21	7 – 14	9-10 meses	12-14
				Año entero	20-22			
Conejo	6 – 9 meses	Inducido P	Ovulación variable	Pm (h.a.m)	31	6-10	3 años	12-14
				Año entero	28-34			

P: Poliéstrica; H: Harén (1 macho (m) por # hembra (h)); Pm: Polígamo, pero apareamiento a mano, es decir, hembra llevada al macho o viceversa;

Capacidad reproductiva óptima: se refiere al periodo de la vida de la hembra con fertilidad y tamaño de camada máximos y con complicaciones mínimas. Los animales criados para la reproducción son usualmente reemplazados al final de este periodo por razones económicas (CCPA, 1998).

4.5 Control sanitario e higiene

Constituye el programa básico de cuidado de los animales en salas de experimentación o bioterios. Allí los animales se integran a una serie de cuidados sanitarios que les protege de microorganismos no definidos como parte de su condición y, por otro lado, se resguarda a quienes los manejan de no contaminarse de microorganismos, especialmente de tipo zoonótico (Cardozo *et al*, 2007).

Este programa incluye una serie de procedimientos de rutina diaria, semanal o mensual que permita la óptima remoción de materiales y elementos potencialmente colonizables por microorganismos. Para ello es indispensable establecer parámetros de monitoreo sanitario al animal y a las instalaciones (Cardozo y Mrad, Sf).



La sanidad se entiende el mantenimiento de condiciones conducentes a la salud y comprende el cambio de cama, la limpieza y desinfección. La frecuencia e intensidad de la limpieza dependerán de las necesidades para brindar al animal un ambiente saludable, de acuerdo a sus características fisiológicas y conducta normal (Peralta, 2012).

Las condiciones de salud de los animales dependen en gran medida del programa de limpieza y desinfección de cada unidad, lo que en dependencia del mismo se reducen las concentraciones de microorganismos patógenos. No deben usar agentes que generen olores o los enmascaren. La cama sucia debe cambiarse cuantas veces sea necesario para mantener a los animales limpios y secos. Las prácticas de sanidad deben verificarse sistemáticamente mediante cultivos microbiológicos para determinar la presencia de contaminantes biológicos (Millán, 2007).

Los métodos y frecuencia varían de acuerdo al tamaño, tipo y propiedades físicas del encierro, tipo, número, edad y condición reproductiva de los animales; el tipo y uso de los materiales de cama; la temperatura, humedad relativa; la naturaleza de los materiales que crean la necesidad de la sanidad; la fisiología normal y las características conductuales de los animales; y la rapidez con que se ensucia las superficies del encierro (Gibson *et al*, 1987 citado por Peralta, 2012).

Los empleados deben saber que la aplicación de buenas prácticas de limpieza y de desinfección son importantes para la prevención de las enfermedades (Small *et al*, 1983 y 1991, citado por Vega, 2002).

4.5.1 Limpieza y desinfección

La limpieza debe ser realizada por personal capacitado para el área. Las superficies se deben desinfectar como mínimo una vez al día, al iniciar y al finalizar una actividad e inmediatamente después de ocurrir una contaminación accidental, con desinfectantes que garanticen la inactivación de los microorganismos (ICA, 2007).

Todas las superficies se deben limpiar y desinfectar con paños humedecidos cuyo material sea de mínima liberación de partículas. No se debe permitir el uso de ceras escobas ni aspiradoras (ICA, 2007).



Figura 38. Limpieza y desinfección
Fuente: Camacho *et al*, 2007

4.5.1.1 Encierros Primarios

La frecuencia de saneamiento de jaulas, estantes y equipo auxiliar como bebederos y comederos está determinado, en alguna medida, por los tipos de jaulas que se usan y las prácticas de manejo que se sigan, incluyendo el cambio regular de cama de contacto o de goteo, el lavado a chorro intermitente de las charolas colocadas debajo de las jaulas suspendidas, el uso de jaulas con pisos perforados o de barras.

En general, los encierros y sus accesorios como tapas deben sanitizarse por lo menos cada dos semanas (ILAR, 2008).

Los conejos y algunos roedores producen orina con altas concentraciones de proteínas y minerales que con frecuencia se adhiere a la superficie de la jaula, haciendo necesario el tratamiento con soluciones ácidas antes del lavado (INTA, Sf).

Los encierros primarios se pueden desinfectar con sustancias químicas, agua caliente o una combinación de ambos. Los tiempos y las condiciones de lavado deben ser suficientes para matar las formas vegetativas de las bacterias comunes y otros organismos que presumiblemente pueden ser controlables con los programas sanitarios (ILAR, 2008).

Cuando se usa agua caliente sola, lo que desinfecta es el efecto combinado del calor y el período de tiempo que una temperatura dada es aplicada (factor de calor acumulado) sobre la superficie del objeto, se puede obtener el mismo factor de calor acumulado exponiendo los organismos a temperaturas muy altas durante lapsos de exposición cortos o bien exponiéndolos a temperaturas más bajas pero por períodos de tiempo más prolongados (Wardrip *et al*, 1994, citado por ILAR, 2008).

Se puede lograr un lavado y enjuagado eficaces con agua a temperaturas de 61.7 a 82.2 °C o superiores. El requerimiento tradicional de 82.2 °C para la temperatura del agua de enjuagado se refiere al agua en el tanque o en la tubería de aspersion. Los detergentes y desinfectantes químicos mejoran la efectividad del agua caliente pero las superficies deben enjuagarse escrupulosamente antes de volver a usar el equipo (ILAR, 2008).

♦ Limpieza y desinfección de jaulas o cajas

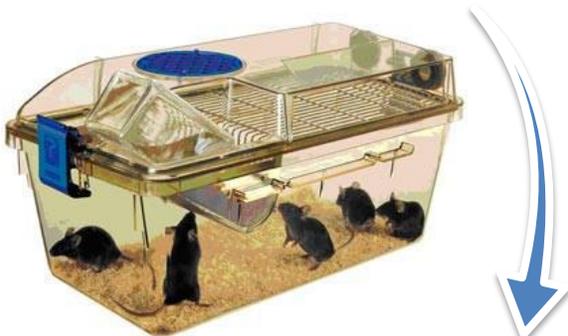
Cambiar el material del lecho dos a tres veces por semana, para evitar concentraciones altas de amoníaco que son perjudiciales para los animales, esta frecuencia también depende del tamaño, cantidad de roedores albergados y de la ventilación del ambiente (Peralta, 2012).



Se recomienda tener un orden como empezar por la primera jaula de izquierda a derecha y de arriba hacia abajo. Usar ese orden para cambiar el lecho, dar la comida y el agua. De esa forma se evita que por distracción, alguna jaula quede sin cambiar, o sin alimento, o agua. En cada cambio de lecho, lavar las jaulas utilizando detergente, esponja o escobilla, luego desinfectar (Peralta, 2012).

Lavado y desinfección

mínimo



Esterilización

máximo

Figura 39. Lavado, desinfección y esterilización de jaulas

Fuente: Genovese, 2012

◆ Limpieza y desinfección de frascos y bebederos

Los frascos bebederos serán lavados y desinfectados cada vez que se suministre agua de beber. Se lavarán con agua, escobilla y detergente toda la superficie interna del frasco, igual proceder con los goteros para lo cual se usa un cepillo especial. Luego, desinfectar con agua caliente o con algún desinfectante como hipoclorito de sodio sumergiendo el bebedero durante una hora (Peralta, 2012).

Los bebederos, pipetas, tapones y otras piezas pequeñas de equipo deben lavarse con agua caliente, detergentes y cuando sea apropiado agentes químicos para destruir los microorganismos.

Los esterilizadores deben ser calibrados y verificados regularmente para asegurar su efectividad y seguridad de operación (ILAR, 2008).

◆ Eliminación de desechos

El área de eliminación de desechos debe proveer espacio para el almacenaje apropiado de material relacionado con los animales, excrementos, camas sucias, cadáveres, materiales peligrosos, etc.

Los desechos colocados fuera de las instalaciones se deben mantener en recipientes cerrados herméticamente.

Se debe tener normado el manejo, almacenamiento, método y frecuencia de eliminación de desechos (Fuentes *et al*, 2008).

◆ Cambio del encamado o lecho

La cama sucia debe retirarse y reemplazarse por material limpio, tan frecuente como sea necesario para mantener a los animales limpios y secos (INTA, Sf).

La frecuencia del cambio depende del criterio profesional del personal que cuida a los animales, de acuerdo con el investigador y depende de factores tales como el tamaño y número de animales en el encierro primario, el tamaño del encierro, la producción de heces y orina, la apariencia y grado de humedad de la cama y las condiciones experimentales (INTA, Sf).

No existe de manera absoluta una frecuencia mínima de cambio de lecho, pero típicamente varía de diario hasta una vez por semana.

En algunos casos está contraindicado el cambio frecuente de la cama, como en los períodos inmediatamente anteriores y posteriores al parto, cuando las feromonas son esenciales para el éxito de la reproducción o bien cuando los objetivos de la investigación no lo permitan (Thigpen *et al.*, 1989, citado por Peralta, 2012).

4.5.1.2 Encierros Secundarios

Todos los componentes de las instalaciones para animales, incluyendo los cuartos de animales y los espacios de apoyo (como áreas de almacenamiento, instalaciones para el lavado de jaulas, pasillos y salas de procedimientos) deben limpiarse regularmente y desinfectarse de acuerdo a las circunstancias y con una frecuencia basada en el uso del área y en la naturaleza de la posible contaminación (ILAR, 2008).

Peróxido de hidrógeno vaporizado o dióxido de cloro son compuestos eficaces para la descontaminación habitación, sobre todo después de la finalización de los estudios con agentes altamente infecciosos (Krause *et al.*, 2001) o la contaminación con agentes microbianos adventicios (CNCI, 2011).

Cuando las áreas tengan diferentes riesgos de contaminación, los utensilios de limpieza deberán asignarse a cada una de ellas y no trasladarse de una a otra. Estos utensilios de limpieza deben ser aseados regularmente y estar fabricados con materiales resistentes a la corrosión, los utensilios desgastados deben reemplazarse regularmente.

Los utensilios deben guardarse de una forma organizada y limpia que facilite su secado y reduzca al mínimo la contaminación (ILAR, 2008).

4.5.2 Procedimientos de Saneamiento

Limpieza

- ◆ Diariamente y en las primeras horas de la jornada se realizarán aseo en las áreas de transferencia para evitar la acumulación de polvo y partículas en estantes, pisos y paredes
- ◆ Semanalmente las paredes, pisos y techos serán desinfectados con cloro al 10% u otro desinfectante en turno
- ◆ En el cuarto de procedimientos usar alcohol al 70% para limpiar las mesas e hipoclorito al 5 % para el piso



- ◆ Diariamente se recogerá la basura y se proveerá los materiales necesarios
- ◆ Los pasillos deben permanecer limpios, secos y libres de cualquier clase de obstáculo (García, 2009).



Figura 40. Higienización del ambiente

Fuente: Majerowicz, 2013a

Material indispensable en el cuarto de procedimientos:

- ◆ Guantes quirúrgicos para la manipulación de los animales
- ◆ Algodón, gasa y equipo de disección estériles
- ◆ Soluciones antisépticas,
- ◆ Bolsas plásticas de RPBI amarillas y rojas, y bolsas negras para la basura común
- ◆ Contenedores de RPBI para punzocortantes
- ◆ Pantallas protectoras de rostro, tapabocas

- ◆ Jeringas estériles de diferentes tamaños
- ◆ Hipoclorito de sodio para desinfectar las mesa de cirugía

Procedimientos a seguir:

- ◆ El nivel de experimentación se aseará diariamente y recolectará la basura
- ◆ Limpiar diariamente los estantes del almacén y recoger restos de basura y alimento, desinfectar una vez por semana
- ◆ Retirar la cama de la jaula sucia con la ayuda de una aspiradora y depositarla para su disposición en bolsas de color negro (o blanco si no estuvieran disponibles bolsas color negro)
- ◆ Lavar las jaulas con detergente, enjuagar y posteriormente sumergirla a una solución con desinfectante, enjuagar varias veces con agua corriente.
- ◆ Poner las jaulas a escurrir, y una vez secas, se les volverá a colocar viruta de madera limpia para su reutilización (García, 2009).

La instalación para animales debe mantenerse limpia. Esto significa que es necesario atenerse a un plan de mantenimiento sanitario periódico, en el que se incluya la eliminación de productos radiológicos o tóxicos (OPS, 1968).

Los encerraderos, corredores, almacenes y demás partes de las instalaciones para animales deben limpiarse, frotarse, sacárseles el polvo con aspiradoras, baldearse o barrerse, empleando además, detergentes o desinfectantes adecuados con la frecuencia necesaria para mantenerlos libres de suciedades, residuos y contaminación perjudicial. También puede ser necesario un control radiológico y toxicológico (OPS, 1968).

Las jaulas y equipo accesorio, por ejemplo comederos y bebederos, deben limpiarse y sanearse con toda la frecuencia necesaria para que se mantengan limpios y sin contaminación. Las jaulas deben sanearse cada vez que se coloquen en ellas nuevos animales.

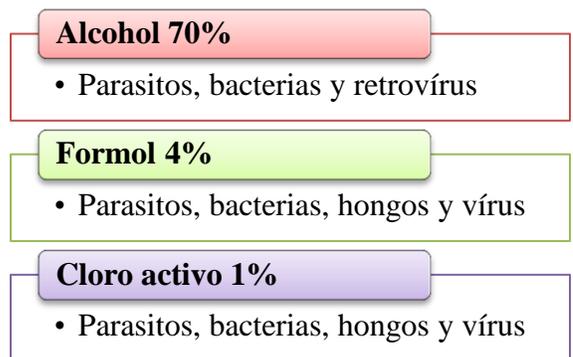
Es bueno disponer siempre de jaulas extras a fin de poder cumplir sistemáticamente con el plan de limpieza de las jaulas. El lavado debe efectuarse a una temperatura de 82 °C, o más alta, para lograr la destrucción de la mayor parte de los organismos patógenos (OPS, 1968).

De no poder alcanzarse esa temperatura, tras el lavado del equipo habrá que proceder a la debida desinfección. Cuando se plantee el problema de la contaminación radiactiva o tóxica debe utilizarse un sistema de control del equipo.

Los recipientes para desechos y su equipo accesorio deben mantenerse en condiciones higiénicas. Es una buena costumbre la de lavar todo recipiente para desechos cada vez que se vacíe (OPS, 1968).

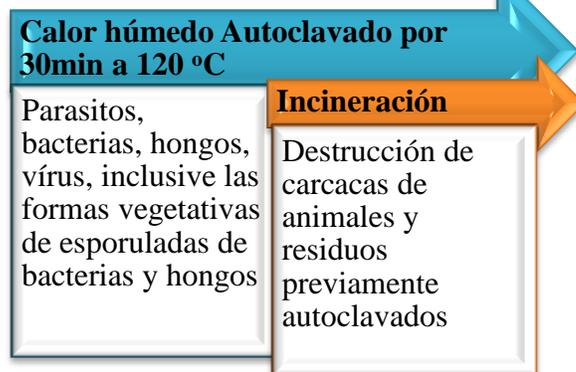
En forma parecida, los enseres de limpieza (raspadores, palas, estropajos, etc.) deben sanearse periódicamente (OPS, 1968).

Esquema 8. Agentes químicos para inactivar los agentes biológicos



Fuente: Fiocruz, 2005 citado por Moraes *et al*, 2009

Esquema 9. Agentes físicos para inactivar los agentes biológicos



Fuente: Fiocruz, 2005 citado por Moraes *et al*, 2009

4.5.3 Control de plagas

Los programas diseñados para prevenir, controlar o eliminar la presencia de infestación por plagas son esenciales en un entorno animal. Un programa de control y seguimiento programado y documentado regularmente se debe implementar (CNCI, 2011).



El programa ideal impide la entrada de insectos y elimina su refugio en las instalaciones (Anadón et al 2008 y 2009, citado por CNCI, 2011).

Los pesticidas pueden inducir efectos tóxicos en los animales experimentales e interferir con los resultados de la investigación (Ohio Cooperative Extension Service 1987 a, b) y por lo tanto su uso en estas áreas debe limitarse a lo indispensable. Antes de usar pesticidas, se debe consultar con los investigadores cuyos animales puedan estar expuestos a ellos (ILAR, 2008).

Si se utilizan trampas, los métodos deben ser humanitarios; las trampas que capturan a los animales vivos requieren una observación frecuente y el sacrificio humanitario, inmediatamente después de la captura (King y Bennett 1989, citado por Peralta, 2012).

Las cucarachas, moscas, chinches, roedores escapados o silvestres y otros animales dañinos por el estilo, constituyen una amenaza para cualquier instalación de animales. Su eliminación o control eficaz debe considerarse imperativo (OPS, 1968).

4.5.4 Evaluación de la efectividad sanitaria

La evaluación de las prácticas sanitarias debe ser adecuada a los procesos y materiales utilizados, puede incluir la inspección visual de los materiales, la verificación de la temperatura del agua, y el análisis microbiológico (ILAR, 2008).

La intensidad de los olores animales, particularmente del amoníaco no debe usarse como único medio de constatar la efectividad del programa sanitario.

La decisión de modificar la frecuencia del cambio de cama de las jaulas o del lavado de las mismas, debe basarse en factores tales como la concentración de amoníaco, la apariencia de las jaulas, la condición del lecho y el número y tamaño de los animales hospedados en la jaula (ILAR, 2008).

Ya sea que el proceso de saneamiento está automatizado o manual, se recomienda la evaluación periódica de la eficacia de saneamiento. Esto se puede realizar mediante la evaluación de los materiales procesados por cultivo microbiológico o el uso de sistemas de detección de material orgánico (por ejemplo, trifosfato de adenosina [ATP] de bioluminiscencia) y / o mediante la confirmación de la eliminación de suelo artificial aplicada a las superficies del equipo antes de lavar (CNCI, 2011).

4.5.5 Medicina Preventiva

La prevención de enfermedades es un componente esencial de la atención médico veterinaria integral. Los programas de medicina preventiva eficaces aumentan el valor de los animales para la investigación, al mantener animales sanos y reducir al mínimo las fuentes de variación ajenas al protocolo, asociadas con enfermedades e infecciones inaparentes (ILAR, 2008).



Estos programas reúnen diversas combinaciones de políticas, procedimientos y prácticas relacionadas con la cuarentena, estabilización y la separación de los animales por especie, fuentes de origen y estado de salud. Para tal fin, el centro de investigaciones deberá disponer de instalaciones separadas para aislar a los animales que presenten síntomas o se sospeche de algún trastorno a nivel sanitario, que pueda poner en peligro al hombre y a los otros animales del lugar (INTA, Sf).

En caso de las ratas de laboratorio se utilizan animales totalmente sanos para su uso en el experimento por lo tanto no existe un calendario de vacunación, en caso de notar alguna anomalía se recurre al sacrificio de la rata y se pone en cuarentena al resto que haya estado en contacto con la rata en cuestión y de presentarse alguna otra anomalía se sacrifican todas (Peralta, 2012).

4.5.6 Vigilancia, diagnóstico y control de enfermedades

Todos los animales deben ser observados por una persona entrenada para reconocer los signos de enfermedades, lesiones o conductas anormales. Como regla, esto debe hacerse una vez al día, pero pueden estar justificadas observaciones más frecuentes, como durante la recuperación post-operatoria o cuando los animales están enfermos o tengan un déficit físico (ILAR, 2008).

Se debe aplicar el criterio profesional para asegurar que la frecuencia y carácter de la observación disminuya al mínimo los riesgos para cada uno de los animales. Es imperativo que se establezcan los métodos adecuados para la vigilancia y diagnóstico de las enfermedades. Las muertes súbitas y los signos de enfermedad, estrés y otras desviaciones de la normalidad en los animales se deben reportar rápidamente, para asegurar que se brinde cuidado médico veterinario adecuado y oportuno (INTA, Sf).

Se deben aislar los animales sanos de aquellos que muestren signos de enfermedades contagiosas en la colonia. Si se sabe o se cree que un cuarto de animales completo ha sido expuesto a agentes infecciosos, el grupo debe mantenerse intacto durante el proceso de diagnóstico, tratamiento y control (ILAR, 2008).

Los métodos de diagnóstico preventivo y terapia deben ser aquellos aceptados en la práctica veterinaria actual. El cuidado médico veterinario se facilita con los servicios del laboratorio de diagnóstico y puede incluir patología clínica, macro y microscópica, hematología, microbiología, química clínica y serología. La elección de la medicación o terapia debe hacerla el veterinario en acuerdo con el investigador (INTA, Sf).

El plan de tratamiento seleccionado debe ser terapéuticamente apropiado y siempre que sea posible no causar variables experimentales indeseables (Peralta, 2012).



En los roedores mantenidos convencionalmente, con frecuencia ocurren infecciones microbianas subclínicas, particularmente virales, pero también pueden ocurrir en instalaciones diseñadas y mantenidas para la producción y utilización de roedores libres de patógenos, cuando se quebranta un componente de la barrera microbiológica.

Algunos ejemplos de agentes infecciosos que pueden ser subclínicos, pero inducen profundos cambios inmunológicos o alteran las respuestas fisiológicas, farmacológicas o toxicológicas son: virus Sendai, virus Kilham de las ratas, virus de la hepatitis de los ratones, virus de la coriomeningitis linfocítica y *Mycoplasma pulmonis* (NRC 1991, citado por Peralta, 2012).

Las características de los programas de vigilancia del estado de salud de los roedores y de las estrategias para mantenerlos libres de patógenos específicos están determinados por los objetivos científicos particulares del protocolo, las consecuencias de la infección en el tipo específico de roedores, y los efectos adversos que podría causar el agente infeccioso en otros protocolos en curso en esas instalaciones (ILAR, 2008).

Las pruebas serológicas, son el principal método para la detección de infecciones virales.

Se deben usar otros métodos de detección para las infecciones microbianas tales como el cultivo bacteriano, la histopatología, el análisis del DNA mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), en las combinaciones que sean más apropiadas para satisfacer los requerimientos específicos de los programas clínicos y de investigación.

Los tumores trasplantables, hibridomas, líneas celulares y otros materiales biológicos pueden ser fuentes de virus murinos que pueden contaminar a los roedores (Nicklas *et al*, 1993, citado por Peralta, 2012).

Se deben considerar las pruebas de producción de anticuerpos antiratón (MAP), producción de anticuerpos antirata (RAP) ya que son eficaces para la verificación de contaminación viral en materiales biológicos (Souza *et al*, 1989 y 1991, citado por ILAR, 2008).





CAP. V



SERVICIOS QUE BRINDA UN BIOTERIO

5.1 Colaboración y uso de los servicios del bioterio

5.2 Académico

5.2.1 Prácticas de asignaturas de la carrera de Medicina Veterinaria

5.3 Investigaciones

5.3.1 Ratones

5.3.2 Ratas

5.3.3 Conejos

5.4 Manejo de los animales del bioterio

5.4.1 Técnica de restricción física

5.4.1.1 Transferencia de jaulas

5.4.1.2 Sujeción del animal

5.4.1.3 Contención manual del ratón

5.4.1.4 Contención manual para ratas

5.4.1.5 Contención del conejo

5.4.1.6 Dispositivos de inmovilización

5.5 Administración de sustancias

5.5.1 Tracto gastrointestinal

5.5.2 Parenteral

5.6 Toma de muestras

5.6.1 Colecta de sangre no terminal

5.6.1.1 Sangrado retro-orbital

5.6.1.2 Mandibular (vena facial)

5.6.1.3 Vena safena

5.6.1.4 Vena de la cola

5.6.1.5 Vena yugular

5.6.1.6 Vena marginal de la oreja (Conejo)

5.6.2 Colecta de sangre terminal con anestesia profunda

5.6.2.1 Punción cardiaca

5.6.2.2 Aorta abdominal

5.7 Volumen de sangre a extraer

5.8 Muestras de material fecal

5.9 Hisopados



Fuente: Hernández, 2013



La decisión de utilizar animales en la investigación requiere pensamiento crítico, juicio y análisis. El uso de animales en la investigación es un privilegio otorgado por la sociedad a la comunidad de investigadores con la expectativa de que tal uso sea proporcionar nuevos conocimientos significativos o llevar a una mejora en el bienestar humano y / o animal (McCarthy 1999 ; Perry 2007, citado por CNCI, 2011).

Es una confianza que exige la atención y el uso responsables y humano de estos animales (CNCI, 2011).

A lo largo de la historia humana, se han buscado remedios de las enfermedades, con este propósito han sido siempre imprescindibles las observaciones en los animales con una doble finalidad: por un lado adquirir conocimientos sobre la organización de los seres vivos, especialmente de los más relacionados filogenéticamente a la especie humana, por otro comprobar los efectos de las sustancias de posible aplicación como medicamentos, para poder definir sus propiedades y aplicaciones, así como sus mecanismos y legares de acción (Zúñiga y Tur Mani, 2001, citado por Vega, 2002).

El uso de animales de laboratorio en estudios de investigación biomédica y producción de reactivos biológicos en general, requiere que éstos sean los apropiados para que proporcionen la seguridad en los resultados esperados, para ello, es necesario contar con bioterios que brinden animales de calidad microbiológica

y genéticamente definidos mantenidos bajo condiciones estandarizadas y de acuerdo con normas establecidas (Fuentes *et al*, 2008).

El principal objetivo de los Bioterios, es el de garantizar la cantidad, la calidad y manejo requerido de todas las especies a albergar, necesarios para desarrollar proyectos de investigación en las distintas áreas correspondientes a pregrado, especialidades, postgrados, maestrías, doctorado, etc. Así como garantizar las adecuadas prácticas de manejo para evitar de forma innecesaria el dolor o el sufrimiento e incrementar el bienestar de los animales (Boada *et al*, 2011).

La investigación que se apoya y soporta en el uso y cuidado de modelos animales experimentales debe cumplir con normas, principios, pautas y acuerdos que permitan, por un lado, cumplir con exigencias de calidad, validez y reproducibilidad de la investigación hecha con rigor y, por otro, que promuevan la expresión de valores de respeto y reconocimiento del animal como ser vivo (Cardozo y Mrad, Sf).

Siempre que se utilizan animales de laboratorio cuando se quieren obtener resultados experimentales, es importante tener como objetivo minimizarles cualquier dolor o malestar (ej. Refinamiento), tanto por razones humanitarias, como para cumplir con las normativas legales, sobre la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos (SECAL, 1998).



Los estudios realizados en animales han contribuido al conocimiento científico para mejorar la calidad de vida, tanto de los humanos como de los mismos animales, permitiendo prevenir y curar las diferentes enfermedades y trastornos, como también el dolor o el sufrimiento causado por éstas (UAMUX, 2004).

Los grandes descubrimientos biomédicos y los constantes avances científicos, que se han realizado en por lo menos 100 años, han dependido de la investigación en animales de laboratorio. (UAMUX, 2004).

5.1 Colaboración y uso de los servicios del bioterio

La ejecución de cualquier actividad experimental (ya sea como trabajo de investigación, grado, tesis o pasantías,) que se realice en el bioterio, debe estar enmarcada como parte constituyente de una línea de investigación aprobada por el Departamento, avalada por el Comité de Ética de la Facultad e inscrita en la Vicerrectoría Académica.

Sin ninguna excepción la primera aproximación de colaboración y uso del bioterio será realizado entre el usuario y el responsable del bioterio. El acuerdo o convenio de compromisos permanentes o transitorios quedara por escrito. Las solicitudes de colaboración deberán hacerse con antelación, al coordinador de las actividades del bioterio, detallando por escrito, el nombre del(los) responsable(s) y el tiempo de uso que conllevará la realización de dichos trabajos (Tovar, 2010).

En ningún caso la formación y entrenamiento de estudiantes para el desarrollo de su trabajo experimental será responsabilidad del coordinador del bioterio que está prestando la colaboración.

Esto es responsabilidad del usuario (ver reglamento de la Facultad), quien debe garantizar el uso adecuado de los animales y el material. Por parte de entidades externas a la universidad se podrán hacer solicitudes de servicios como parte de un convenio de colaboración (Tovar, 2010).

5.2 Académico

La decisión de utilizar animales para la enseñanza, debe estar fundamentada sobre propósitos educativos, más bien que sobre la contribución a nuevos conocimientos científicos. En otros aspectos, las prácticas éticas relativas al cuidado y al tratamiento de animales son las mismas que estas que se aplican al uso de animales en la investigación (CCPA, 1998).

5.2.1 Prácticas de asignaturas de la carrera de medicina veterinaria

La farmacología, fisiología, toxicología, endocrinología, algología, bioquímica y otras ciencias modernas proceden de la experimentación animal, disciplinas de evidente aplicación a los humanos. Están basadas en someter los animales a experimentos o en observar fenómenos espontáneos en ellos (Victoria y Morón, 2010).



Las demostraciones en aula que involucren a animales deberían ser usadas únicamente cuando los objetivos pedagógicos no pueden lograrse mediante el uso de cintas de video, películas u otros métodos alternativos. Habrá que considerar cuidadosamente si se justifica el tipo de demostración por los beneficios esperados de esta enseñanza (CCPA, 1998).

El objetivo de la experimentación es:

Investigar procesos biológicos en los seres humanos y en los animales.

Estudiar las causas de las enfermedades.

Testar fármacos, vacunas y técnicas quirúrgicas.

Evaluar la seguridad de algunas sustancias químicas empleadas en pesticidas, cosméticos y otros productos (García, 2007).

Los proyectos de estudiantes que involucren dolores o angustia para los animales, deberían emprenderse juiciosamente y solamente cuando los objetivos de aprendizaje no puedan lograrse de ninguna otra manera (CCPA, 1998).

En lo que se refiere a la experimentación con animales, se debe ir más allá de no causarles daños físicos innecesarios, proporcionándole un adecuado bienestar físico y psíquico, lo cual se logra cuando se cumplen los reglamentos y legislaciones establecidas en las instituciones y hay un mayor desarrollo profesional del personal especializado (Victoria y Morón, 2010).

Los proyectos de investigación de estudiantes son parte de un "continuum" que comienza con tareas en el aula, hasta los estudios de doctorado (que deben contribuir a nuevos conocimientos científicos).

Si los estudiantes deben adquirir los conocimientos y la pericia requeridos por estas directrices, es necesario que ganen experiencia trabajando con animales. Esta experiencia, especialmente para los estudiantes quienes demuestren un marcado interés para una carrera orientada hacia la investigación (CCPA, 1998).

5.3 Investigaciones

Los científicos sostienen que se ha podido desarrollar una medicina avanzada (como antibióticos o vacunas) gracias a la experimentación animal y que ésta sigue siendo un factor clave en la investigación y tratamiento de las enfermedades coronarias, el cáncer o el SIDA (García, 2007).

Debe haber una expectativa razonable y previa para el investigador de que los estudios que involucren animales:

- ◆ Mejorarán la comprensión de las estructuras y procesos que sirven de base al comportamiento
- ◆ Mejorarán la comprensión de la especie animal en particular usada en la experimentación
- ◆ Serán eventualmente benéficos para la salud y el bienestar de los seres humanos o de otros animales (CCPA, 1998).



En gran parte de los experimentos, el animal actúa como sustituto del hombre y se le denomina “modelo animal”. Los resultados obtenidos en los experimentos con animales depende de la selección del modelo animal adecuado y la capacidad de extrapolar los resultados depende de este modelo y de la naturaleza de la investigación (Victoria y Morón, 2010).

En la actualidad la experimentación animal sigue desempeñando un papel de primer orden en muchos ámbitos:

- ◆ **En agroalimentación:** genes de interés agronómico, diseño de plantas transgénicas, etc.
- ◆ **En sanidad humana y animal:** diagnóstico de enfermedades, obtención de vacunas, tratamiento de enfermedades, etc.
- ◆ **En biotecnología:** sistemas biológicos de producción de proteínas, bioseguridad, etc.
- ◆ **En medio ambiente:** detección de contaminantes, bioseguridad, etc.
- ◆ **En investigación genómica:** análisis estructural y funcional de genomas, mapeo físico y genético de genomas, nuevas tecnologías para su análisis funcional, modelos animales de enfermedades humanas, etc.
- ◆ **En medicina y farmacia:** modelos de patología molecular, ingeniería biomédica para el diagnóstico clínico, xenotransplantes (de cerdo y primates a humanos), etc.
- ◆ **En oncología:** mecanismos de la progresión tumoral, desarrollo de nuevos marcadores, control, invasión y metástasis, estrategias terapéuticas, predicción de radiosensibilidad, etc.
- ◆ **En enfermedades infecciosas:** bacterianas resistencia a antibióticos, métodos de diagnóstico rápido, persistencia, inmunosupresión, víricas (hepatitis o inmunodeficiencia) y parasitarias (leishmaniosis, paludismo, etc.).
- ◆ **En enfermedades cardiovasculares:** biopatología de la pared vascular, cardiopatías, isquemia, hipertensión arterial, etc.
- ◆ **En investigación farmacéutica:** diseño, síntesis y acción biológica de nuevos agentes terapéuticos, farmacología y toxicología, biotransformación, etc. (Boada *et al*, 2011).

5.3.1 Ratones

Colombet (2013), citado por ECastillo (2013), explica: “El modelo animal por excelencia todavía es el ratón, sobre todo para estudiar enfermedades que afectan a las personas desde el inicio al nivel celular hasta su manifestación clínica, como cáncer, autoinmunidad, hipertensión; lo que nos permite tener un panorama detallado de la afección y de un medicamento diseñado para tratarla” (Vega, 2002).



Son los animales más sofisticados que pueden usar los investigadores, tanto en investigaciones de tipo patológico como en experimentación genética. En la actualidad se cuenta con estirpes y líneas, tales como:

- ◆ Ratones totalmente libres de gérmenes (axénicos)
- ◆ Ratones con flora bacteriana o vírica conocida (gnotobióticos)
- ◆ Ratones libres de patógenos específicos (SPF)
- ◆ Ratones resistentes a determinadas infecciones. Ej.: de la raza Swiss, Webster consiguió una cepa resistente a *Salmonella typhimurium* (Webster)
- ◆ Ratones convencionales (sin garantía bacteriológica) (Vega, 2002).

Para la investigación genética se encuentra:

- ◆ Animales consanguíneos después de más de 20 reproducciones entre hermanos
- ◆ Híbridos F1 de dos líneas parenterales consanguíneas
- ◆ Cada una de estas estirpes puede resultar susceptible a una serie espontánea de procesos patológicos o tumorales (Vega, 2002).

El ratón, para el estudio del lupus, y los ratones desnudos, en la atimia y enfermedades autoinmunes (Arch, 2004).

5.3.2 Ratas

Son animales muy utilizados en investigaciones biomédicas (clínica, factores nutricionales, endocrinología), estudios toxicológicos, ensayos inmunológicos y con radiaciones y como modelos en intoxicaciones en el medio ambiente (Vega, 2002).

Rattus norvegicus es más usada en fisiología. Su tamaño facilita técnicas de microcirugía ya que es de 10 a 15 veces mayor al del ratón y presenta menos agresividad (Victoria y Morón, 2010).

Esta especie también es utilizada en Toxicología: ensayos de administración de dosis, embriotoxicidad, toxicidad neonatal, teratogénesis, mutagénesis. Farmacología: evaluación de medicamentos. Medicina comparada: modelos de enfermedades, microcirugía, geriatría (Boada *et al*, 2011).

La rata proporciona el mejor modelo animal accesible para estudiar la endocrinología del comportamiento humano. La rata Wistar se reporta como modelo para el estudio espontáneo de la otitis media (Arch, 2004).

5.3.3 Conejos

Es de las primeras especies utilizadas en experimentación biológica. (*Oryctolagus cuniculus*) es utilizado fundamentalmente en la producción de antisueros, farmacología, toxicología, teratogenicidad y reproducción (Hernández, 2006).



Esta especie es utilizada para estudios fisiológicos, nutrición, reproducción, inmunología, parasitarias, pruebas de irritantes cutáneos y oculares, pruebas de piretógenos (Lijteroff, 2012).

En ensayos de Toxicología, Inmunología, Oncología, Reproducción, Nutrición. Producción de Ac Policlonales. Pruebas de pirógenos en productos biológicos. Reconoce una mayor diversidad de antígenos que otras especies (Hernández, 2013).

5.4 Manipulación de los animales del bioterio

Los animales parecerán tener menos autoconciencia, pero padecen dolor, nostalgia, alegría, pena y exhiben características individuales; en el caso de los mamíferos, parece indiscutible fundamento de una ética de la relación entre especies.

Por tanto, no cabe pensar que un espíritu científico auténtico se deleite en cometer aberrantes crueldades con los seres vivos, nuestros compañeros "biosféricos" en la tarea de la supervivencia (Victoria y Morón, 2010).

En conejos y roedores de laboratorio, se detectaron estímulos y condiciones que pueden afectar su bienestar psicológico y su salud general (CCPA, 1998).

No está permitido, bajo ninguna circunstancia, de practicar métodos experimentales que necesiten un contacto físico en las salas donde viven los animales, sobre todo si estas manipulaciones provocan el miedo y/o las emisiones vocales (CCPA, 1998).

Cuando se trata de animales se debe evitar la agitación y movimientos bruscos. Espere unos minutos antes de sujetarlos, para que los animales puedan investigar la mano del investigador y el olor del guante (Neves *et al.*, 2013).

5.4.1 Técnica de restricción física

La restricción física es el uso de medios manuales o mecánicos para limitar algunos o todos los movimientos normales del animal con el propósito de examinarlo, la recogida de muestras, administración de drogas, terapia o manipulación experimental. En la mayoría de las ocasiones en que se aplica, los animales son inmovilizados por lapsos breves, generalmente minutos (CNCI, 2011).

Los movimientos del animal pueden ser restringidos brevemente ya sea en forma manual o mediante aparatos de restricción, estos últimos deben ser del tamaño, diseño y operación apropiados para reducir al mínimo la incomodidad o evitar lesiones al animal (Peralta, 2012).



5.4.1.1 Transferencia de jaulas

Con el fin de transferir los animales de una jaula a otra, así como el pesaje de los animales; los ratones deben ser manejado con cuidado y firmeza, suspendiendo el animal con la mano de parte media del cuerpo por detrás de las patas delanteras y la cabeza (Neves *et al*, 2013).



Figura 41. Manejo de roedores para cambio de jaula

Fuente: Neves *et al*, 2013

La manipulación de los recién nacidos debe hacerse rigurosamente con guantes y de manera suave y tranquila, cogerlos uno a uno o en pequeños grupos y posarlos cuidadosamente entre la palma y los dedos de la mano extendidos y juntos (Fuentes *et al*, 2008).

La madre se retira primero colocándola en la jaula, con el fin de no causar reacciones defensivas cuando el nido se elimina de la jaula. El nido y su contenido deben ser llevados a la nueva jaula, que debe ser reemplazado suavemente en el estante (Neves *et al*, 2013).

Los ratones deben ser manejados por la base de la cola. Si el camino es largo, debe apoyarse al animal (Neves *et al*, 2013).



Figura 42. Manipulación de ratones para el intercambio de jaula

Fuente: Neves *et al*, 2013

5.4.1.2 Sujeción del animal

La sujeción deberá ser llevada a cabo suavemente por un operador experimentado que, siempre que sea posible, esté familiarizado con el animal. En pequeños animales, puede utilizarse un anestésico de acción corta para manipularlos con comodidad. Recordar que algunos agentes sedantes/anestésicos pueden alterar los parámetros bioquímicos y hematológicos. (INTA, Sf).

Los animales que no se adaptan a los sistemas de sujeción necesarios deben ser retirados del estudio. Cuando se utilizan los dispositivos de retención, deben ser diseñados específicamente para lograr los objetivos de investigación que son imposibles o muy difíciles de lograr por otros medios o para evitar daños a los animales o el personal. (CNCI, 2011).

El nivel correcto de sujeción, es el que permite tomar una muestra satisfactoria al primer intento sin causar pánico innecesario en el animal, en cuyo caso los animales cercanos pueden alarmarse, lo que llevaría a complicaciones científicas como de bienestar (INTA, Sf).

Ofrecen dificultad para su manejo ya que al sentirse capturados con frecuencia muerden. Debe usarse guantes exactos a la mano del operario para que no tenga dificultad en el manipuleo de los animales (Fuentes *et al*, 2007).

5.4.1.3 Contención manual del ratón

Los ratones usualmente son sostenidos por la base de la cola, específicamente en el área de la parte media hacia la base. Con este sencillo método de sujeción pueden ser transferidos de una jaula a otra, examinados y sexados (Cervantes, 2012)

Para la aplicación de un tratamiento o un examen más profundo, este método no es suficiente. Para un mejor control sobre el ratón, este debe ser sujetado por la cola, colocado sobre la rejilla de la jaula, y entonces con el dedo pulgar e índice, tomar la piel que se encuentra en la parte superior de su cuello y hombros (Neves *et al*, 2013).

Durante este proceso el ratón puede voltearse y morder pero una vez sujetado correctamente, está perfectamente controlado (Cervantes, 2012).

Al girar la mano, el ratón queda con su parte ventral hacia arriba y su cola es atrapada entre el dedo anular y la punta del dedo meñique (Neves *et al*, 2013).

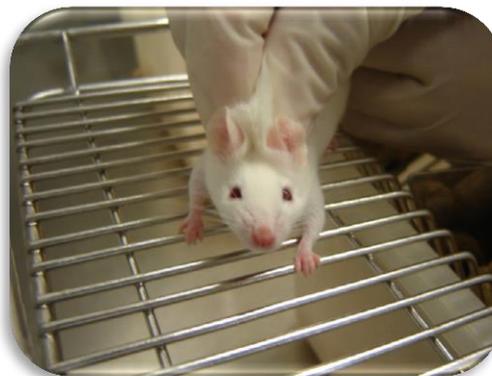


Figura 43. Tomando la piel de la parte superior

Fuente: Neves *et al*, 2013



Figura 44. Sujeción con una mano en ratones

Fuente: Neves *et al*, 2013

Existen dispositivos de restricción aplicables a ratones que ayudan a la sujeción y al manejo correcto del animal (Cervantes, 2012).

5.4.1.4 Contención manual para ratas

Normalmente se sujetan por todo su cuerpo



Figura 45. Sujeción en ratas
Fuente: Cervantes, 2012

Se cubre con la palma de la mano toda su espalda con los dedos rodeando su cuerpo cerca del cuello, debajo de las axilas de sus patas delanteras (Cervantes, 2012).



Figura 46. Sujeción de la rata. Agarrandola alrededor del tórax con el dedo índice bajo la mandíbula
Fuente: Peralta, 2012



Figura 47. Contención de la rata tomándola sobre la espalda, manteniendo la cabeza entre dedos índice y medio
Fuente: Neves *et al*, 2013



Figura 48. Método de 'Rata Wrap' de moderación. La rata es colocada en el centro de una toalla
Fuente: Peralta, 2012



Figura 49. Una esquina de la toalla se dobla por encima de la rata



Figura 50. Se continúa con otra esquina de la toalla que se dobla por encima de la rata

Fuente: Peralta, 2012



Figura 51. Las otras esquinas de la toalla se doblan por encima de la rata

Fuente: Peralta, 2012



Figura 52. Se realiza un dispositivo de retención manual, 1/4 a 1/2 de la rata está disponible para las inyecciones

Fuente: Peralta, 2012

El buque puede introducirse con una aguja de calibre 21 o más pequeña. Si desean colecciones de sangre serial, la primera muestra debe tomarse como distal posible

(Cerca de la punta de la cola) y posteriores muestras tomadas de desalojo. Uno debe tomar precauciones para asegurar que los animales no experimentan exposición de calor excesivo (Peralta, 2012).



Figura 53. Contención que involucra los dedos por debajo de las patas delanteras

Fuente: Neves *et al*, 2013.

Este método de sujeción ideal para animales mayores de 300 g. Por lo general se mueven con cuidado y si son transportados habitualmente, no requiere recuperación (Arrebola *et al*, 2010).

◆ Sujeción con una mano

Saque el animal de la jaula tomándolo de la zona media de la cola, y apóyelo (sin soltarlo) sobre una superficie rugosa o rejilla contra la que pueda ejercer resistencia. Apoye su mano sobre el dorso del animal tirando de él, toda la piel (Fuentes *et al*, 2008).



Figura 54. Contención manual, tirando de toda la piel en la parte posterior
Neves *et al*, 2013

Las ratas pueden ser también sujetadas por la cola de forma temporal. La sujeción de la rata con una mano es lo más común y efectivo para ejercer el control adecuado y debe estar acompañado de la sujeción de las patas y la cola con la otra mano para un control total (Cervantes, 2012).

Ratas jóvenes y más pequeñas pueden ser manejadas de la misma forma que un ratón, cuando su tamaño no permita la sujeción con la mano (Cervantes, 2012).

Existen dispositivos de restricción aplicables a ratas que ayudan a la sujeción y al manejo correcto del animal (Cervantes, 2012).

5.4.1.5 Contención del Conejo

No muerden con frecuencia pero pueden causar heridas con las uñas de sus patas. Sujételo de forma tal que las patas traseras estén lejos del cuerpo del operario. Sujetándolo por la piel sobre los hombros con la cabeza en dirección al operario es el mejor método de sujeción para un conejo. Cuando esté colgado, se debe sujetar la parte bajo del cuerpo con la otra mano (Cervantes, 2012).

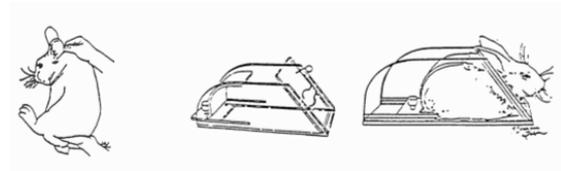


Figura 55. Contención en conejos
Fuente: Cervantes, 2012

Nunca deben ser levantados por las orejas. Si el conejo comienza a moverse violentamente y en rotación, debe colocarse rápidamente sobre una superficie plana y esperar a que se tranquilice.

Este movimiento violento y en forma circular puede traer como consecuencia la fractura de una o más vértebras lumbares y daño fatal en la espina dorsal. Los conejos pueden ser llevados a un estado de hipnosis cuando se les acaricia sobre su espalda y el abdomen.

Durante la sujeción los conejos pueden intentar escapar de forma violenta y pueden dañarse con la aguja o cualquier otro instrumento pudiendo causar daños en el animal o el operario. Por lo tanto la sujeción firme debe realizarse antes de iniciar el procedimiento experimental (Cervantes, 2012).



Figura 56. Contención manual para transportar al conejo (Neves *et al*, 2013)



Figura 57. Técnica de contención para procedimientos de colecta e inoculación endovenosa (Neves *et al*, 2013).

5.4.1.6 Dispositivos de inmovilización

Los dispositivos desarrollados para la inmovilización de corta duración de los animales de experimentación, incluyen una jaula de plástico para los oposomes (Thomason y Russell, 1986 citado por CCPA, 1998).

Las jaulas de restricción son muy eficientes y se recomienda para la mayoría de los procedimientos (Cervantes, 2012).



Figura 58. Técnica de contención en jaula de plástico para conejos
Fuente: Neves *et al*, 2013

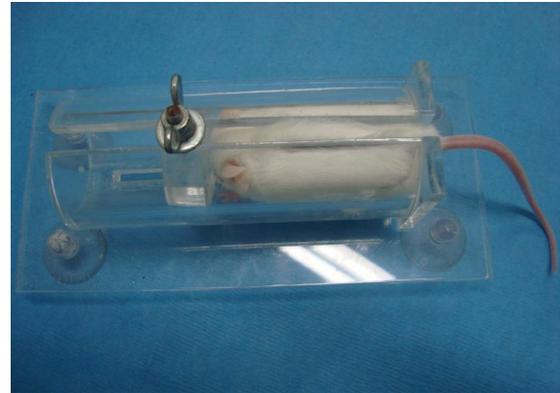


Figura 59. Contención artificial para ratones
Neves *et al*, 2013

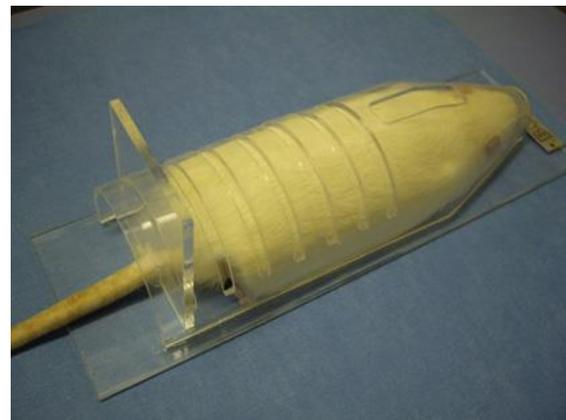


Figura 60. Contención artificial para ratas
Fuente: Neves *et al*, 2013

5.5 Administración de sustancias

Las vías de administraciones más comunes se clasifican de la siguiente forma:

5.5.1 Tracto gastrointestinal

Las sustancias pueden ser administradas oralmente cuando se trate de alimentos, agua, cápsulas o píldoras. Las cápsulas o píldoras son poco usadas en conejos y roedores (INTA, Sf).

◆ Oral

Es el método más simple para la administración de sustancias (Neves *et al*, 2013).

Se puede utilizar el alimento o el agua, en volumen máximo de 1 ml de solución por cada 100 g de peso del animal, cuando es vehículo oleoso y 2 ml de solución cuando es solución acuosa (Fuentes *et al*, 2008)

Lo ideal es mediante sonda orogástrica. El animal es manualmente sostenido y la inmovilización de la cabeza es esencial en este procedimiento. Se introduce la aguja lentamente en la cavidad oral a través de la boca y la faringe hasta el esófago (Neves *et al*, 2013).



Figura 61. Sonda orogástrica
Fuente: Neves *et al*, 2013

En conejos se utiliza una cánula de madera o plástico con un orificio que se coloca debajo de los incisivos. Esto impide el masticado y permite una fácil introducción del tubo estomacal (Cervantes, 2012).

◆ Recto

La administración de fluidos por el recto no es frecuente aunque ciertos agentes deben ser administrados por esta vía.

Tubos flexibles o no pero con la punta en bola o roma pueden ser usados siempre que el animal esté en una posición de restricción de movimientos. Este catéter debe ser lubricado permitiendo su introducción lentamente mientras el ano se dilata (Cervantes, 2012).

5.5.2 Parenteral

Las rutas de inyección parenteral se encuentran en varias partes del cuerpo. Lugares utilizados para la colecta de sangre pueden ser usados para la administración en vena de fluidos. La vía intraperitoneal es la más utilizada así como la intramuscular y la subcutánea.

Roedores

◆ Intravenosa

Las sustancias se administran directamente en el torrente sanguíneo del animal, la ventaja de esta vía es que otras soluciones se pueden administrar con pH alto o bajo y se absorben más rápidamente (Neves *et al*, 2013).

Se utilizan agujas de 27-30G y jeringas tuberculina de 1 ml. Teniendo el animal inmovilizado dentro de un dispositivo de restricción, se utilizan las venas laterales de la cola, estas se dilatan con alcohol o calor (Fuentes *et al*, 2008).

Inserte la aguja paralela a la vena de la cola, penetrando 2 mm a 4 mm en el lumen, manteniendo el bisel de la aguja hacia arriba (Neves *et al*, 2013).

La punta de la aguja puede verse como penetra en la vena (Cervantes, 2012).

No utilizar medicamentos con vehículo oleoso o sustancias irritantes (Fuentes *et al*, 2008).



Figura 62. Inoculación en cola de ratón
Fuente: Neves *et al*, 2013



Figura 63. Inoculación endovenosa caudal en rata
Fuente: Neves *et al*, 2013

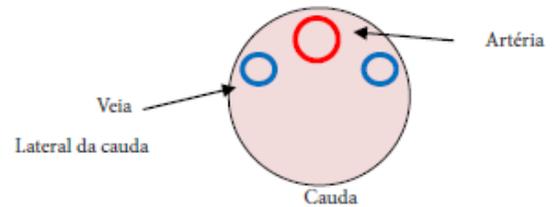


Figura 64. Ubicación de la arteria caudal
Fuente: Neves *et al*, 2013

◆ Intraperitoneal

El animal se coloca con el lado ventral hacia arriba. Se inserta la aguja en la piel en el cuadrante izquierdo inferior del abdomen, luego se lleva cranealmente y se introduce en la cavidad peritoneal (Neves *et al*, 2013).

Se usa jeringas y aguja calibre 25 –27 G. ½ a 1 pulgada, de bisel pequeño. La jeringa con aguja debe estar paralela a la columna vertebral (Fuentes *et al*, 2008).

Una rápida administración del fluido puede causar daños en el tejido y hemorragia debido a la presión (Cervantes, 2012).

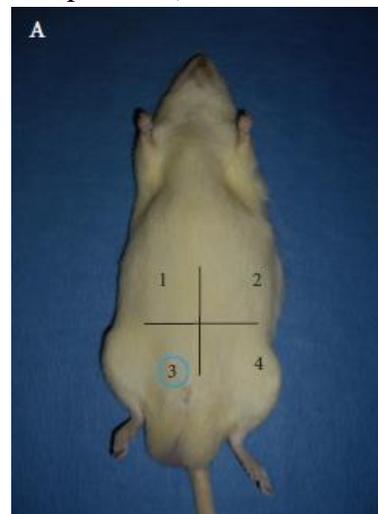


Figura 65. Cuadrante izquierdo sitio ideal para inoculación
Fuente: Neves *et al*, 2013



Figura 66. Inoculación intraperitoneal en ratas

Fuente: Neves *et al*, 2013



Figura 68. Inoculación Intradérmica

Fuente: Neves *et al*, 2013

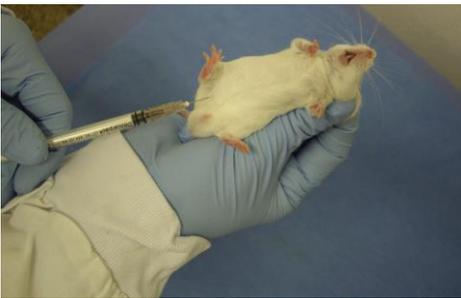


Figura 67. Inoculación Intraperitoneal en ratones

Fuente: Neves *et al*, 2013



Figura 69. Burbuja en punto de aplicación

Fuente: Neves *et al*, 2013

◆ Intradérmica

El animal es anestesiado y luego se realiza el afeitado de la ubicación donde se administrara el producto, tiene que ser desinfectada con alcohol 70% (Neves *et al*, 2013).

La piel de los animales se estira con el pulgar o el índice y la aguja se inserta justo por debajo de la capa superficial de la epidermis.

A la aplicación del producto se puede formar una burbuja en la piel del animal. El volumen a administrar es de 0.05 ml por administración (Neves *et al*, 2013).

◆ Subcutánea

Es fácil y rara vez es dolorosa. La velocidad de absorción es menor en comparación con intraperitoneal e intramuscular (Neves *et al*, 2013).

Esta vía es utilizada como alternativa a la intramuscular. Se prefiere los sitios en que abunde tejido conjuntivo, en el dorso a nivel del cuello o los flancos (Fuentes *et al*, 2008).

El lugar ideal es en el área escapular. Si se realiza con frecuencia debe de alternarse el área de aplicación (Cervantes, 2012).

La aguja se inserta en la piel paralela a la columna vertebral (Fuentes *et al*, 2008).



Figura 70. Inoculación en la región del cuello

Fuente: Neves *et al*, 2013



Figura 71. Inoculación en la región del flanco

Fuente: Neves *et al*, 2013

◆ Intranasal

El animal debe ser ligeramente anestesiado y manualmente restringido, permaneciendo con la cabeza elevada. La punta de la pipeta se coloca en los orificios nasales externos y entonces la solución se administra lentamente a las fosas nasales. El volumen a administrar es 0.02 ml por administración (Neves *et al*, 2013).



Figura 72. Inoculación Intranasal

Fuente: Neves *et al*, 2013

◆ Intramuscular

Esta vía se utiliza para volúmenes pequeños, porque el músculo de los roedores es pequeño (Neves *et al*, 2013).

Se realiza en la región antero-lateral del musculo con agujas de 26 a 30G, ½ pulgadas con jeringa de tuberculina. El volumen máximo es de 0.05 ml (Fuentes *et al*, 2008).

La restricción del animal puede realizarse con el apoyo de otra persona o el uso de anestesia ligera (Cervantes, 2012).



Figura 73.



Figura 74.

Figura 73 y 74. Inoculación Intramuscular
Fuente: Neves *et al*, 2013

Lagomorfos

◆ Intravenosa

Para esta técnica no se recomienda una restricción manual. Entre el equipamiento podemos utilizar agujas de 20 a 25G, 1 pulgada y una jeringa de 5 ml o menos. Esta vía es usada como alternativa a la vía IM para la administración de alguna droga.

La vena marginal de la oreja es ideal para aplicaciones. El pelo de la oreja debe ser eliminado y la piel desinfectada con alcohol o yodo antes de realizar la punción. La vena puede golpearse delicadamente varias veces con el dedo para dilatar. Inyectar en la vena cerca de la base de oreja (Cervantes, 2012).

◆ Intraperitoneal

Equipamiento: agujas 19-20G, 1 a 1^{1/2} pulgadas con la adecuada jeringa. Puede utilizarse una tabla plana con cuerdas en las cuatro esquinas que permitan la sujeción de cada pata. La superficie de la tabla debe estar lisa, limpia y desinfectada.

El uso de ketamina puede tranquilizar al animal y hacer que el procedimiento tenga éxito. El abdomen del conejo se rasura; para evitar la dispersión de pelo, utilice alcohol al 95%. Debe cuidarse de no dañar estructuras y órganos en el momento de hacer la punción (Cervantes, 2012).

◆ Intramuscular

El lugar más común es la parte trasera del musculo lateral. Si se requiere realizar más de una punción, el área debe rotarse. El pelo debe ser rasurado y la piel desinfectada.

Equipamiento: agujas de 22 a 23G, 1 pulgada. Debe tenerse en cuenta el apoyo de un asistente o de un equipo de restricción adecuado (Cervantes, 2012).

◆ Subcutánea

La mejor área de aplicación es la escapular. Limpiar la piel con alcohol, eliminar el pelo, mantener la piel levantada al aplicar la inyección.

Equipamiento: agujas de 20 a 23G con 1 pulgada y jeringas adecuadas para la aplicación (Cervantes, 2012).

Tabla 17. Ruta de aplicación y volumen

RUTA DE APLICACIÓN Y VOLUMEN (ml/kg EXCEPTO *ml/sitio)						EV (INOC. LENTA)
Especie	Oral	Sc	IP	IM	EV bolo	
Ratón	10 (50)	10 (40)	20 (80)	0.05* (0.1)*	5	(25)
Rata	10 (40)	5 (10)	10 (20)	0.1* (0.2)*	5	(20)
Conejo	10 (15)	1 (2)	5 (20)	0.25 (0.5)	2	(10)

Entre paréntesis se indica el volumen máximo que se puede administrar de acuerdo a la ruta elegida. No se puede utilizar la vía IM en más de 2 lugares por día y la inoculación SC debe estar limitada a 2-3 sitios por día.

INTA, Sf

5.6 Toma de muestras

5.6.1 Colecta de sangre no terminal

Extracción de sangre

Muchas de las pruebas de laboratorio, requieren de muestras o cantidades determinadas de sangre, ello está determinado por el tipo de prueba en cuestión. Este y otros factores determinan la técnica y método a emplear (Cervantes, 2012)

En los roedores, se exige un conocimiento previo de la anatomía del animal en cuestión, con entrenamiento sobre animales muertos (INTA, Sf).

◆ Preparación del área

Prácticamente los requerimientos para la extracción de sangre son los mismos que para la inoculación de fluidos y la aplicación de tranquilizantes o anestesia (Cervantes, 2012).

Tanto la vena como la arteria deben ser localizadas claramente antes de efectuar la punción. Cortar, rasurar la zona para garantizar mejor visibilidad (INTA, Sf).

El área debe ser desinfectada con alcohol y algún método para dilatar la vena debe ser usado. El uso de focos de luz de pocos watts y calor en la vena son métodos útiles para extracción de sangre en la vena del conejo, cola de rata o ratón, etc.

También se pueden dilatar frotando con xilacina seguido de alcohol. Recordar que la xilacina es irritante. En la oreja del conejo, la frotación con alcohol dilata la vena (Cervantes, 2012).

El volumen de sangre extraído y la frecuencia de los muestreos se basarán en el propósito del procedimiento científico y el volumen total de sangre del animal (especie animal, edad y estado fisiológico-nutricional) INTA, Sf.



◆ Equipamiento necesario

En todos los casos debe utilizarse material descartable y estéril. La piel y el vaso deben ser perforados con un solo movimiento, el cual debe ser sólido y firme (INTA, Sf).

Las agujas y las jeringas deben ser seleccionadas con meticulosidad, especialmente si se hacen punciones en vena (Cervantes, 2012).

El calibre de las agujas dependerá del tamaño del animal, del volumen de sangre requerido y del procedimiento al que será sometida la muestra. (INTA, Sf).

◆ Técnica

La parte más difícil es la introducción de la aguja en vena. La aguja debe insertarse paralela a la vena y la punta de la aguja dirigida al lumen de forma longitudinal (Cervantes 2012).

Las venas se colapsan si la muestra se toma muy deprisa, por lo tanto debe asegurarse un ritmo adecuado (INTA, Sf).

◆ Efectos adversos

Algunos de los problemas que pueden surgir luego de la punción son:

Hemorragias

Hematomas

Trombosis

Stress por manipulación inadecuada (INTA, Sf).

◆ Métodos de punción no recomendados

Muchos métodos tradicionales de sangrado no pueden aceptarse debido a su crudeza. Los métodos que impliquen el corte de venas de la oreja, hacer cortes repetidos en la cola (o vena de la cola) y cortar las garras/uñas, deben evitarse.

En las ratas, los cortes repetidos de la cola pueden producir granulomas, lo que da lugar a la formación de una masa de tejido en la extremidad de la cola.

Las amputaciones repetidas de la cola, especialmente en ratas, puede eliminar la capacidad natural del animal de controlar la temperatura corporal y el equilibrio.

No se recomienda utilizar la vena púbica o del pene o de la lengua, ya que presentan efectos adversos como trombosis, que llevan a un bloqueo temporal de la uretra o hinchazón de la lengua y causarán una extrema molestia y un intenso dolor (INTA, Sf).

5.6.1.1 Sangrado retro-orbital

No se recomienda este procedimiento, ya que puede cegar a los animales si el operador no está bien entrenado (Neves *et al*, 2013).

El conocer la ubicación de las estructuras venosas del ratón y la rata ayuda al éxito de la técnica. Es obligatoria la anestesia en toda técnica de extracción de sangre (Cervantes, 2012).



El animal deberá ser sujetado suavemente por el cuello a la altura de la nuca, en una superficie sólida, de forma que sobresalgan los ojos. Esto puede ayudar a ocluir el retorno venoso de la cabeza y el cuello.

Deberá cuidarse de no impedir la respiración. En un ratón se puede recoger de 100 a 200µl de sangre (INTA, Sf).

El procedimiento es rápido, el volumen de sangre es de mediano a grande y se obtiene buena calidad de la muestra (Neves *et al*, 2013).

Esta técnica presenta muchos efectos adversos. Puede aparecer una hemorragia después de la recogida de sangre, con el resultado de un hematoma retro-orbital y presión excesiva del ojo. Daño neural al atravesar los huesos de la órbita con la micropipeta, la penetración del propio globo, con pérdida de humor vítreo y la infección que provoca la inflamación y posterior degeneración del ojo (INTA, Sf).

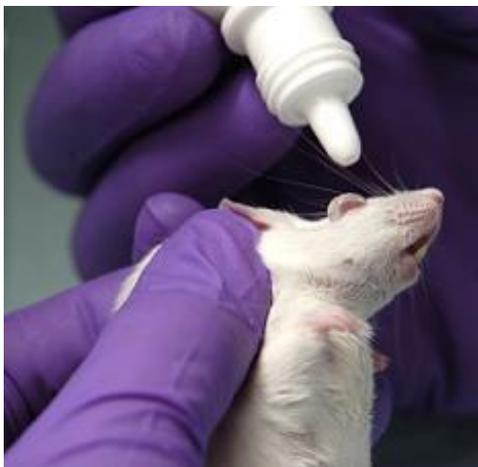


Figura 75. Anestésico oftálmico
Fuente: Neves *et al*, 2013



Figura 76. Extracción de sangre retro-orbital

Fuente: Neves *et al*, 2013

5.6.1.2 Mandibular (vena facial)

Esta ruta se limita a ratones adultos, y el volumen de sangre obtenida es de medio a grande. La muestra se presenta como una mezcla de sangre venosa y arterial.

Para esta técnica, no se recomienda el uso de anestesia. Dependiendo de las necesidades del experimento, se pueden utilizar diversos calibres de las agujas, para el control de la cantidad de sangre a extraer (Neves *et al*, 2013).

En este procedimiento, una aguja o lanceta pronto se pega por detrás y debajo de la marca del masetero muscular del animal situado en la región de la mejilla

Para completar el procedimiento, se utiliza una gasa estéril para detener el sangramiento (Neves *et al*, 2013).



Figura 77. Punción por detrás del masetero
Fuente: Neves *et al*, 2013



Figura 78. Colecta de sangre en la vena facial de roedores
Fuente: Neves *et al*, 2013

5.6.1.3 Vena Safena

Utilizada en los roedores. El volumen de sangre a extraer es de pequeño a mediano y la calidad de la muestra es variable.

La vena safena se encuentra en la superficie externa del muslo. Para una mejor visualización, deberán ser retirados por la región del muslo del animal.

Para ver la vena, se pone un torniquete por encima del muslo, seguido, puede aplicar un lubricante para facilitar la recolección. Se introduce la aguja y se recogen las gotas de sangre que surgen (Neves *et al*, 2013).

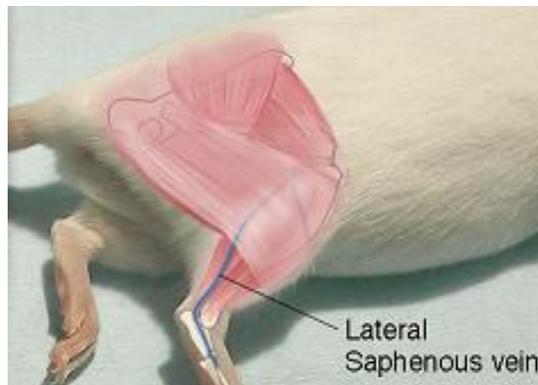


Figura 79. Localización del lado de la vena safena
Fuente: Neves *et al*, 2013

5.6.1.4 Vena de la cola

La toma de muestra en vena de la cola del ratón y la rata es posible (Cervantes, 2012).

La calidad de la muestra varía y puede estar contaminada y se disminuye proporcionalmente al sangrado prolongado y el ordeño de la cola (Neves *et al*, 2013).

La vena se ve lateralmente cerca de la base de la cola, se requiere buena iluminación y dilatación para observarse mejor (Cervantes, 2012).

El primer paso es colocar al animal en un retenedor o anestesiárselos. Posteriormente se pasa un algodón con alcohol 70% para desinfectar. La cola debe ser calentada para producir una vasodilatación. Este calentamiento se puede hacer con una lámpara caliente o incluso se sumerge la cola en agua tibia (35 °C) (Neves *et al*, 2013).

Para pequeños volúmenes, se puede proceder a la amputación de la cola alrededor de 1mm en ratones y 2mm en ratas (Neves *et al*, 2013).



Figura 80.



Figura 81.

Figura 80 y 81. Colecta de sangre en vena caudal

Fuente: Neves *et al*, 2013

Aunque es un método útil, tanto este como el corte de dedos en ratón deben ser evitados lo más posible (Cervantes, 2012).

5.6.1.5 Vena Yugular

Esta ruta se limita a los ratones y el volumen es de medio o grande con una buena calidad de la muestra.

El animal primero debe ser anestesiado y restringido de manera que permanece con la cabeza hacia arriba.

Con el cuello distendido, se encuentra la vena yugular y la sangre se extrae con una jeringa de 1 ml, la inserción de la aguja es de 1mm a 3mm de profundidad (Neves *et al*, 2013).

5.6.1.6 Vena marginal de la oreja (Conejo)

En el conejo es ideal para la extracción de pequeños volúmenes de sangre y también puede ser usada para inyecciones intravenosas. En este lugar es simple la técnica. El área es afeitada y desinfectada con xilacina seguido de alcohol. La vena es dilatada seguido de la introducción cuidadosa de la aguja y la extracción de la sangre.

Se coloca la gasa en la punción para evitar hematomas. El mejor método para extraer mayores cantidades de sangre del conejo es el uso de la arteria de la oreja y un vacutainer de 50 ml. Con esta técnica entre 30 a 40 cc de sangre pueden ser colectadas (Cervantes, 2012).



Figura 82. Extracción de muestra de la oreja

Fuente: Neves *et al*, 2013

Canulación

Esta técnica se utiliza para disminuir el stress y el daño al animal que debe ser sangrado repetidamente. Las cánulas pueden implantarse (canulación) y ser utilizadas para evitar entradas repetidas de agujas en un mismo lugar o sustituyendo muestreos simples en varias zonas.

Se puede colocar un vendaje para proteger la cánula en las ratas, se puede sujetar con algún tipo de arnés, previo acostumbamiento del animal a llevar el mismo (INTA, Sf).

◆ Equipamiento y material

Habitualmente se utilizan cánulas de polipropileno, polietileno, nylon y goma, pero la goma de silicona (silastic) y las cánulas de Tygon parecen ser más biocompatibles.

Se deberá dejar una solución salina con heparina (por ejemplo 30UI/ml) o algún otro anticoagulante en la cánula o aguja

entre muestreos, ya que es común la formación de coágulos que imposibilitan la toma de muestras. Cada vez que se requiera pinchar la extremidad de la cánula, la misma deberá desinfectarse con alcohol 70° (INTA, Sf).

◆ Efectos adversos

Bloqueos: los trombos se pueden formar en la extremidad de la cánula, bloqueándola totalmente o formando una especie de válvula que hace imposible la extracción.

Infecciones: esta puede ser evitada mediante el uso de equipo y soluciones estériles y utilización de técnicas asépticas.

Retirada accidental: Puede salirse del animal por movimientos propios o por sus compañeros (INTA, Sf).

5.6.2 Colecta de sangre terminal con anestesia profunda

5.6.2.1 Punción Cardíaca

La punción en corazón es el método más práctico para la toma de sangre en pequeños roedores cuando solo se requieren unas gotas de sangre. También se utiliza en especie mayores (Cervantes, 2012).

Se obtiene una buena cantidad de sangre formado a partir de una mezcla de sangre venosa y arterial (Neves *et al*, 2013).

Siempre deberá llevarse a cabo bajo anestesia general en todos los animales de laboratorio. Normalmente se pincha el ventrículo izquierdo con el animal sobre el lado derecho (INTA, Sf).

Otro método recomendado es con el animal de espaldas e introducir una aguja larga justo debajo del esternón hasta el corazón (INTA, Sf).

Se introduce la aguja en un ángulo de 45° con una ligera inclinación hacia la izquierda (Neves *et al*, 2013).

La extracción debe ser lenta y la cantidad limitada a menos que se decida la eutanasia del animal (Cervantes, 2012).

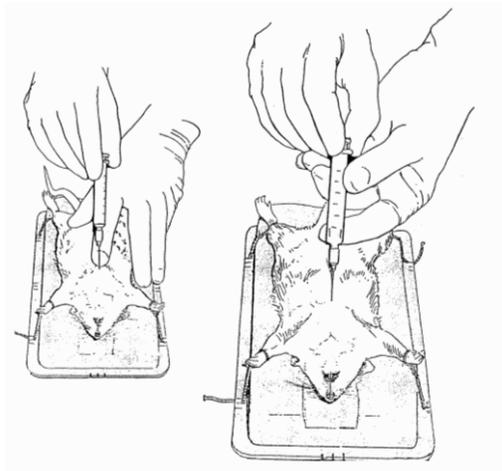


Figura 83. Extracción cardiaca
Fuente: Cervantes, 2012



Figura 84. Punción cardiaca
Fuente: Neves *et al*, 2013



Figura 85. Localización del corazón
Fuente: Neves *et al*, 2013

◆ Materiales

Las agujas para realizar la punción cardíaca deberán ser largas para penetrar el ventrículo. Para un solo sangrado, con recuperación, en animales pequeños, una aguja de 25 mm x 21- 23 G será suficiente. El calibre y largo de la aguja deberá ir aumentando en relación al tamaño el animal.

5.6.2.2 Aorta Abdominal

Después de la anestesia profunda, el animal se coloca en posición supina. Descontaminar toda la longitud del pecho y el abdomen del animal con alcohol al 70%. A continuación, se procederá a la apertura de piel y luego el peritoneo, asegurándolo con agujas (Neves *et al*, 2013).

Los órganos de la región abdominal son de distancia a un lado, para ser capaz de localizar la vena. Coloque la aguja suavemente en la vena evitando que no explote, atrayéndola de vagar (Neves *et al*, 2013).



Figura 86. Punción de aorta abdominal
Fuente: Neves *et al*, 2013

Tabla 18. Ventajas y Desventajas de los sitios de extracción de sangre

RUTA/ VENA	ANESTESIA GENERAL	DAÑO TISULAR	SANGRADO REPETIDOS	VOLUMEN	ESPECIES
Yugular	no	Bajo	Si	+++	Rata, conejo
Safena/tarsal lateral	No	Bajo	Si	++(+)	Ratón, rata
Marginar de la oreja	No(local)	Bajo	Si	++	conejo
Sub-lingual	Si	Bajo	Si	+++	Rata
Cola lateral	No	Bajo	Si	++(+) +	Rata Ratón
Arteria central de la oreja	No(local)	Bajo	Si	+++	Conejo
Amputación de la cola (<1 to 3mm)	Si	Moderado	Limitado	+	Ratón/rata
Retro-orbital	Si	Moderado/alto	Si	+++	Ratón/rata
Punción cardíaca (1)	Si	Moderado	No	+++	Ratón/rata, conejo

(1) solo como procedimiento terminal (INTA, Sf).

5.7 Volumen de sangre a extraer

La extracción del 10% de volumen sanguíneo, iniciará los mecanismos colinérgicos; entre un 15 y 20% del volumen, reducirá el gasto cardíaco y la presión sanguínea. Si se extrae un 30-40% se puede inducir un shock hemorrágico y una pérdida de un 40% puede producir una mortalidad del 50% en ratas (McGuill y Rowan, 1989, citado por INTA, Sf).

Hasta un 10% del volumen de sangre circulante puede ser extraída en una sola ocasión de animales normalmente sanos y bien nutridos con efectos adversos mínimos. Este volumen puede repetirse después de 3-4 semanas (INTA, Sf).

Para sangrados repetidos a intervalos más cortos, se puede extraer un máximo de 1% del volumen sanguíneo circulante cada 24 horas.

Tabla 19. Volumen de sangre circulatoria en Animales

ESPECIE	VOLUMEN DE SANGRA (ml/kg) ¹
Ratón	78-80
Ratas	50-70
Conejos	44-70

¹ Teniendo en cuenta que se trata de un animal maduro, sano y con un plan de nutrición adecuado.

Tener en cuenta que el porcentaje de sangre circulante será algo más bajo (-15%) en animales obesos y viejos (INTA, Sf).

Tabla 20. Volúmenes límites y período de recuperación

MUESTREO SIMPLE (EJ. ESTUDIO DE TOXICIDAD)		MUESTREO MÚLTIPLE (EJ. ESTUDIO TOXICO-CINÉTICO)	
% volumen circulatorio extraído	Periodo de recuperación	% volumen circulatorio extraído en 24 h	Periodo de recuperación
7.5%	1 semana	7.5%	1 semana
10%	2 semanas	10-15%	2 semanas
15%	4 semanas	20%	3 semanas

INTA, Sf

La tabla siguiente indica el volumen total de sangre y máximo volumen de sangre que puede extraerse sin provocar disturbios en la fisiología normal del animal



Tabla 21. Volumen total de sangre y máximo volumen de sangre que puede extraerse

ESPECIE (peso)	VOLUMEN DE SANGRE (ml)	7.5% (ml)	10% (ml)	15% (ml)	20% (ml)
Ratón (25g)	1.8	0.1	0.2	0.3	0.4
Rata (250g)	16	1.2	1.6	2.4	3.2
Conejo (4 kg)	224	17	22	34	45

INTA, Sf

Volúmenes más pequeños, pero extraídos con demasiada frecuencia, provocarán anemia. Si se extrae mucha sangre rápidamente o demasiado seguido, sin reponerla, el animal puede entrar en shock hipovolémico de corta duración y a largo plazo sufrir anemia (INTA, Sf).

Para recoger cantidades mayores de lo recomendado, debe presentar una justificación y hacer la reposición de líquidos y sustitutos celulares. Es importante destacar que el volumen de sangre se recoge en 24 horas, pero las células rojas se vuelve a los niveles normales a las dos semanas (Neves *et al*, 2013).

Tabla 22. Sitios recomendados para muestreos sanguíneos repetidos

ESPECIE	SITIO RECOMENDADO
Ratón	Safena, lateral de la cola
Rata	Safena, lateral de la cola, sub-lingual
Conejo	Marginal de la oreja, arteria central de la oreja, yugular

INTA, Sf

5.8 Muestras de material fecal

Para el análisis de heces fecales, se procederá a ubicar en jaulas metabólicas un fondo de rejilla al 10% de la masa roedora a analizar, seleccionando las heces más frescas y cuidando siempre que estas no se contaminen con la orina, u otro material de residuo (Arrebola *et al*, 2010).

Las mismas deberán tomarse con extremo cuidado, minimizando los daños en la mucosa anal. El animal deberá mantenerse firmemente, para disminuir los riesgos de lesiones en los operadores (INTA, Sf).



Se envasarán en pequeñas bolsas de nylon con su previa identificación que incluye el lugar a donde será enviada, régimen alimentario de los animales, condiciones de crianza, especie, edad, estado de salud y síntomas en los casos que se sospeche de parasitismo, en los casos en que solo sea para pesquisaje de la masa se omite este dato (Arrebola *et al*, 2010).

5.9 Hisopados

Usar hisopos estériles o tampones para tomar muestra de secreciones tanto nasales, oculares, genitales. Aislar y proteger, lo más rápidamente posible, la muestra, una vez tomada (INTA, Sf).

También se toman muestras de paredes, pisos y estantes donde están las cajas de los animales, luego proceder a sumergir un tubo de ensayo estéril con medio mínimo para posterior análisis microbiológico (Arrebola *et al*, 2010).

Usar guantes limpios que deben cambiarse con frecuencia. Evitar hablar o estornudar sobre las muestras. Usar mascarilla, según el tipo de muestra y agente infeccioso usar bata u otro tipo de ropa protectora.

Utilizar material desechable, siempre que sea posible. No añadir conservantes a las muestras. Eliminar todo el material desechable empleado en la recogida de muestras. (INTA, Sf).



GLOSARIO

Ad-libitum: es una expresión del latín que significa literalmente «a placer, a voluntad» y quiere decir «como guste»

Acidular o acidificar: Es el proceso de hacer que un líquido o una sustancia sea ligeramente ácido

Aislamiento: El periodo de aislamiento del individuo debe ser igual o superior al tiempo de incubación más largo de determinada enfermedad (del italiano *quarantina*, cuarenta días). Aislamiento al que se somete a un individuo que padece una enfermedad infecciosa para evitar que la transmita a otros individuos

Artrópodos: Son animales invertebrados dotados de un esqueleto externo y apéndices articulados, entre ellos: insectos, arácnidos, crustáceos

Albina: Que tiene falta de pigmentación y presenta un color más o menos blanquecino
Alérgenos: Sustancia que puede inducir una reacción de hipersensibilidad en personas o animales susceptibles, que han estado previamente en contacto con el alérgeno

Alérgenos: Es una sustancia que puede inducir una reacción de hipersensibilidad en personas susceptibles, que han estado en contacto previamente con el alérgeno

Algología: Es la rama de la ciencia que se encarga del estudio de dolor y su tratamiento científico

Amputación: Exéresis de una extremidad o de una parte de la extremidad, pero también de un órgano o de una parte cualquiera del cuerpo. Según el mecanismo de la exéresis, puede ser *espontánea, traumática* y quirúrgica

Anemia: Síndrome que se caracteriza por la disminución anormal del número o tamaño de los glóbulos rojos que contiene la sangre o de su nivel de hemoglobina

Anidamiento: Acción de construir un nido u ocupación del mismo

Anestro: Es la ausencia de comportamiento estral en un periodo de tiempo

Antibióticos: Son sustancias químicas o derivados sintéticos, que mata o impide el crecimiento



Antisueros: o antiofídico es un producto biológico utilizado en el tratamiento de picaduras o mordeduras venenosas

Atimia: Alteración de la afectividad que se caracteriza por la indiferencia afectiva, el desinterés y la inactividad. Es frecuente en la esquizofrenia y en la depresión

Autoclaves: Una autoclave es un recipiente de presión metálico de paredes gruesas con un cierre hermético que permite trabajar a alta presión para realizar una reacción industrial, una cocción o una esterilización con vapor de agua

Autónomo: Aquello que goza de autonomía. Un dispositivo autónomo que no requiere de un ordenador para funcionar

Bioterio: La palabra Bioterio viene del griego que significa: bíos, “vida” y terio "lugar". Lugar donde se alojan animales que cuentan con una calidad genética y microbiológica definida donde se realiza la cría, mantenimiento y experimentación

Bioética: Es estudio de los aspectos éticos de las ciencias de la vida, así como de las relaciones del hombre con los restantes seres vivos

Biocompatible: es el material que puede ser utilizado en algún implante o prótesis

Carcinogénesis: U oncogénesis Es el proceso por el cual una célula normal se convierte en una célula cancerosa

Canibalismo: es el acto o la práctica de alimentarse con miembros de la propia especie. El canibalismo puede producirse entre miembros de muchas especies

Cautiverio: Es el estado de privación de libertad

Cateterización: Es el proceso de introducir una sonda en la vejiga para drenar orina

Coespecífica: Organismo miembro de la misma especie

Colinérgicos: es un medicamento o veneno que actúa al estimular o producir efectos equivalentes a las acciones del sistema nervioso parasimpático

Contaminación: procede del latín *contaminatio* y hace referencia a la acción y efecto de contaminar. Es la introducción en un medio cualquiera de un contaminante

Contención: Acción y efecto de contener



Contusión: Es una lesión o daño causado por un golpe o comprimir una parte del cuerpo sin producir herida

Consanguíneas: Surge de aparear individuos que presentan entre si alguna relación de parentesco y viene expresada en términos de porcentajes

Convulsiones: Es un síntoma transitorio caracterizado por actividad neuronal en el cerebro que conlleva a hallazgos físicos peculiares como contracción y distensión repetida y temblorosa de uno o varios músculos de forma brusca y generalmente violenta

Corrosión: se define como el deterioro de un material a consecuencia de un ataque electroquímico por su entorno

Coito: Es el acto que consiste en la introducción del pene en la vagina

Coprófago: Es la ingestión voluntario de heces. El término proviene de griego copros (heces) y phagein (comer)

Contaminación cruzada: Consiste en el trasvase de microorganismos patógenos entre los mismos huéspedes

Cuarentena: Es la acción de aislar o apartar a los animales durante un período, para evitar o limitar el riesgo de que extiendan una determinada enfermedad contagiosa; no necesariamente durante cuarenta días

Decapitación: ES la separación por cercenamiento de la cabeza del cuerpo, por medio de un objeto cortopunzante como cuchillo

Descontaminación: Eliminación total o parcial de la contaminación del medio ambiente o de otra cosa. Es la reducción de la cantidad de microorganismos, con el fin de disminuir el riesgo de infección y la carga bacteriana de los efluentes. Es necesario que el material sea sometido a este procedimiento en el lugar en que se utilizó, para evitar que se adhieran restos de materia orgánica (pus, sangre, tejidos) y sustancias medicamentosas en las superficies

Desinfección: Es el proceso físico o químico por medio del cual se logra eliminar los microorganismos de formas vegetativas en objetos inanimados, a excepción de las esporas. Eliminación de los gérmenes que infectan o que pueden provocar una infección en un cuerpo o un lugar

Dislocación: Son lesiones o daños que se producen cuando un hueso se sale de la articulación



Distensión: Alargamiento de una estructura, como tendones, ligamentos o partes articulares. En ocasiones, sobre todo en traumatología, se habla de distensión cuando se ha provocado un alargamiento forzado de un tendón o ligamento, lo que lleva consigo la ruptura de algunas fibras colágenas con síntomas de dolor e impotencia funcional

Droguería: Es un comercio especializado o bien un mercado de proporciones mayores. Establecimiento en el que se venden principalmente productos farmacéuticos

Efluentes líquidos: Son residuos líquidos mezclados con sólidos

Embolismo gaseoso: Es la obstrucción de los vasos arteriales por un émbolo gaseoso

Embriotoxicidad: Capacidad de una sustancia para producir efectos tóxicos en la progenie durante el primer período de la preñez, desde la concepción al estado fetal

Endogámicas: Se refiere a la reproducción de las especies de la misma ascendencia

Enfermedades ocupacionales: Es aquella enfermedad adquirida en el puesto de trabajo de un trabajador por cuenta ajena

Eutanasia: es la acción u omisión que acelera la muerte de un paciente desahuciado con la intención de evitar sufrimientos. El concepto está asociado a la muerte sin sufrimiento físico

Espécimen: Es la Muestra, modelo o ejemplar que tiene las cualidades o características que se consideran representativas de la especie a la que pertenece

Estancos: Es un compartimiento estanco que el agua no puede penetrar

Esterilización: Proceso de destrucción de todas las formas de vida en un objeto o material, incluidas las endosporas. La esterilización puede lograrse mediante tratamientos físicos y químicos. El calor es el método más empleado por su gran eficacia. Puede aplicarse calor húmedo, se requieren normalmente procesos de 121° C durante 15 minutos, o calor seco con tratamientos de 170° C, por espacio de dos horas, si bien estos parámetros cambian en función de otras variables del producto que se va a esterilizar

Estirpes: Es una sucesión hereditaria, conjunto formado por la descendencia de un sujeto a quien ella representa y cuyo lugar toma. Grupos de especies de un mismo origen

Estrés: Conjunto de alteraciones que se producen en el organismo como respuesta física ante determinados estímulos repetidos



Exacerbar: Es la agravación o avivar una enfermedad, una molestia, etc.

Exanguinación: Es la sustracción de la totalidad de la sangre

Exéresis: Separación natural, accidental o quirúrgica de una parte del cuerpo. Se denomina también escisión o resección

Exótico: Se describe a la especie, grupo, comunidad, subespecie o taxón inferior tanto de fauna como de flora que puede sobrevivir y reproducirse sin necesidad de estar en su territorio natural. Es decir que proviene de otro lugar ajeno al nuestro

Exogámicos: Son productos obtenidos de enlaces de grupos diferentes

Factible: Es la probabilidad de que se puede hacer o que es fácil de hacer

Fauna nociva: son todo animal que produce algún tipo de daño, con ciertas condiciones ambientales incrementan su número y se pueden llegar a convertir en plagas produciendo enfermedades infecto-contagiosas

Feromonas: son sustancias químicas secretadas por los vivos con el fin de provocar comportamientos específicos en otros individuos de la misma especie

Fotoperiodo: es un estado que incide directamente en los animales durante la época de reproducción. Esto quiere decir que el inicio de este período está condicionado por el fotoperiodo, o lo que es lo mismo, la relación entre las horas de luz y oscuridad y los cambios de temperatura. Cuantas más horas de luz haya, más probable es que los animales tiendan a reproducirse, así como el hecho de que haga más frío o más calor

Genealogía: Es el estudio y seguimiento de la ascendencia y descendencia de una especie

Hematología: Parte de la medicina que estudia los elementos inmunológicos de la sangre y las enfermedades que se manifiestan por la alteración de estos elementos; trata también de los órganos que producen la sangre

Hepatotóxico: implica daño en las células de hígado

HEPA: Filtro de aire de alta eficiencia que satisface unos estándares

Herbívoros: Son todos aquellos animales los cuales se alimentan principalmente de hierbas

Heterogeneidad: Es todo lo que está compuesto por partes de distinta naturaleza



Hipersensibilidad: Es una reacción inmunitaria exacerbada que produce un cuadro patológico causando trastornos, incomodidad y a veces, la muerte súbita

Hipocampo: Prominencia encefálica situada en la pared externa de los ventrículos laterales del cerebro

Holgado: Que tiene una ventaja superior a la necesaria. Que es más grande de lo necesario para el fin al que está destinado

Homocigosis: Un organismo es homocigoto respecto a un gen cuando los dos alelos codifican la misma información para un carácter

Homogeneidad: Es aquello que pertenece o que está relacionado a un mismo género

Hormonas: son sustancias secretadas por células especializadas, localizadas en glándulas de secreción interna o glándulas endocrinas, o también por células epiteliales e intersticiales cuyo fin es la de afectar la función de otras células

Hibridomas: es una línea celular híbrida obtenida mediante la fusión de un linfocito B productor del anticuerpo específico de interés, con una línea celular de mieloma que no produce una inmunoglobulina propia

Histopatología: Es la rama de la patología que trata el diagnóstico de enfermedades a través del estudio de los tejidos

Incinerador: Cualquier dispositivo, aparato, equipo, estructura o artefacto utilizado para destruir, reducir o recuperar por el fuego materiales o sustancias consistentes. Que es utilizado para la eliminación de microorganismos a altas temperaturas

Infección subclínica: Es una infección que no produce síntomas evidentes

Infrasonido: es una onda acústica u onda sonora cuya frecuencia está por debajo del espectro audible del oído

Inherentes o Intrínsecos: aquello que, debido a sus condiciones naturales, resulta imposible separarlo de algo ya que está unido de una manera indivisible a eso

Inmunodeficiencia: Estado del organismo consecuente a una deficiencia funcional del sistema inmunitario, dejando al organismo vulnerable a infecciones



Inmunodeprimidos: O depresión inmunológica, describe un sistema inmunológico que funciona por debajo del índice de normalidad

Inmunosupresión: Es la Disminución o anulación de la respuesta inmunológica del organismo mediante tratamiento médico

Inmunidad: Es un estado de resistencia que tiene ciertos individuos o especies frente a la acción patógena de microorganismos o sustancias extrañas

Introito: Es la apertura o entrada en un órgano hueco o cavidad

Invasividad: Es la capacidad de un microorganismo para infiltrarse en el cuerpo y extenderse por los tejidos

In vitro: Se refiere a la técnica para realizar un determinado experimento en un tubo de ensayo o generalmente en un ambiente controlado, fuera de un organismo vivo

Lavabos: O lavamanos, es un recipiente en el que se vierte el agua para el aseo personal

Lecho: Cama o lugar que beneficia un descanso y dormir para los animales

Lupus: Enfermedad crónica del tejido conjuntivo que se caracteriza por la inflamación de los órganos afectados, como la piel, el hígado, el corazón, el cerebro, los pulmones, etc.

Marlo o Coronta: Es el subproducto que queda de la mazorca de maíz después de que se han extraído los granos

Meriones: es una especie de roedor miomorfo de la familia Muridae. Es un roedor herbívoro parecido a la rata, cubierto de pelo y con una larga cola

Miscegenación: Es la mezcla que se da de entre las razas

Microorganismos: Es un ser vivo, o un sistema biológico, que solo puede visualizarse con el microscopio. Algunos microorganismos son patógenos y causan enfermedades

Mortalidad: Es la última etapa necesaria del ciclo vital, donde aquellos que tienen una existencia que comienza con el nacimiento, la terminan con la muerte

Murinos: son una subfamilia de roedores miomorfos perteneciente a la familia Muridae, que incluye a los comúnmente llamados ratones y ratas del viejo mundo



Mutantes: un ser viviente que ha sufrido una mutación. Mutación es un cambio en la información genética de un ser vivo, que produce una variación de las características de este que se presenta de manera espontánea y súbita y que se puede heredar a la descendencia

Mutagénesis: es aquella modificación del material genético que resulta estable y transmisible a las células hijas que surgen de la mitosis

Necropsia: Examen del cadáver para determinar las causas de muerte

Ocluir: Cerrar un conducto, abertura u orificio del cuerpo de manera que no se pueda abrir de forma natural

Opistótonos: Es la postura característica de los que sufren una infección por *Clostridium tatami*. Reconocible por la contracción continuada o rigidez de los músculos de tal forma que el cuerpo queda curvado hacia atrás

Oquedades: Espacio hueco en el interior de un cuerpo u objeto

Ósmosis inversa: es un fenómeno físico relacionado con el movimiento de un solvente a través de una membrana semipermeable

Otitis: es la inflamación del oído y/o sus tejidos y partes. Es la inflamación de los espacios del oído independientemente de cuál sea la patogenia

Parásitos: Son organismos que viven a expensas de los tejidos de un ser vivo (hospedador)

Patógeno: Es todo agente que puede producir enfermedad o daño a la biología de un huésped, sea este humano, animal o vegetal

Pellets: Son un producto totalmente natural, catalogado como biomasa sólida, el cual está formado por cilindros muy pequeños, de unos pocos milímetros de diámetro

Pesticidas: pueden ser de origen de síntesis química, biológica o productos naturales, destinadas a repeler, atraer, matar y regular o interrumpir el crecimiento de alguna plaga

Piretógenos: Se definen a los agentes productos de fiebre

Pirógeno: es cualquier agente productor de fiebre,¹ es decir, sustancias que actuando sobre los centros termorreguladores del hipotálamo producen un aumento de temperatura

Plagas: Se le considera a cualquier animal que produjera daños.



Poliéstrica: Son ciclos estrales consecutivos

Poliéstrica continua: aparecen ciclos estrales durante todo el año, interrumpiéndose solo en la preñez

Polimerasa: Es una enzima capaz de transcribir o replicar ácidos nucleicos

Polivalencia: Cualidad de lo que tiene varios valores o desempeña varias funciones

Posición supina: Posición de decúbito apoyado el cuerpo sobre el plano horizontal por su parte posterior

Postoperatorios: Periodo que se sigue de una intervención quirúrgica y requiere una atención y vigilancia especial del paciente

Postnatal: Es el período que empieza después del parto y termina cuando el cuerpo de la madre ha vuelto lo mejor posible al estado antes de la gestación

Prequirúrgica: Es aquello que tiene lugar en las etapas previas a una operación quirúrgica. Lo habitual es que, antes de una intervención, el paciente deba cumplir con ciertos requisitos y respetar las indicaciones del médico para que la operación tenga mayor probabilidad de éxito

Prolificidad: Es la capacidad de producir, alta Fertilidad

Pruebas serológicas: Son las formas de evaluación relativas, que detecta concentraciones de inmunoglobulinas

Pulverización: Es el procedimiento de pulverizar y el resultado del mismo. El verbo pulverizar, que procede del vocablo latino pulverizāre, se refiere a difuminar una sustancia líquida en partículas diminutas o a convertir algo en polvo

Radioisótopo: Elemento atómico en forma isotópica que emite partículas radiactivas

Radiactivos: Algún elemento químico que emiten radiaciones que tienen propiedad de impresionar placas radiográficas, ionizar gases, producir fluorescencia, atravesar cuerpos opacos a la luz ordinaria. Cuerpo que presenta radioactividad, emitiendo radiaciones

Radiación: Emisión de energía o de partículas que producen algunos cuerpos y que se propaga a través del espacio. Emisión de radiaciones luminosa, térmicas, magnéticas o de otro tipo



Radiaciones ionizantes: Son aquellas radiaciones con energía suficiente para ionizar la materia, extrayendo los electrones de sus estados ligados al átomo

Radiaciones no-ionizantes: Es aquella onda o partícula que es capaz de arrancar electrones de la materia que ilumina produciendo, como mucho, excitaciones electrónicas

Radiosensibilidad: Es la sensibilidad de los tejidos vivos a la acción de las radiaciones ionizantes

Retina: Membrana interior del ojo en la cual se reciben las impresiones luminosas que son transmitidas al cerebro; cubre la coroides hasta el iris y está formada esencialmente por expansiones del nervio óptico

Sanitización: es el proceso por el cual se realiza una reducción sustancial del contenido microbiano, hasta un nivel de seguridad, sin que se llegue a la desaparición completa de microorganismos patógenos, sin producir algún tipo de infección

Shock hemorrágico: es un shock hipovolémico caracterizado por una pérdida extravascular de sangre, importante y rápida, que induce una disminución del volumen sanguíneo circulante

Shock hipovolémico: es un síndrome complejo que se desarrolla cuando el volumen sanguíneo circulante baja a tal punto que el corazón se vuelve incapaz de bombear suficiente sangre al cuerpo

Sesgar: Se refiere en alterar algún resultado

Solventes orgánicos: es cualquier sustancia, en general un líquido a temperatura ambiente, que disuelve otra sustancia y origina una solución

Susceptibilidad: Es una condición del cuerpo que aumenta la probabilidad de que el individuo desarrolle una enfermedad en particular

Teratogénesis: se refiere a malformaciones anatómicas macroscópicas. Un agente teratogénico es una sustancia, agente físico u organismo capaz de provocar un defecto congénito durante la gestación del feto

Tóxico: Que es venenoso o que puede causar trastornos o la muerte a consecuencia de las lesiones debidas a un efecto químico

Trombosis: Situación vascular anormal en la que se desarrolla un trombo en el interior de un vaso sanguíneo



Ultrasonido: Es una onda acústica o sonora cuya frecuencia está por encima del umbral de audición del oído

Vacunas coadyuvantes: Ayudan a estimular la producción de inmunidad en contra de los ingredientes de la vacuna, haciendo más efectiva

Vacutainer: tubo de ensayo específicamente diseñado para la venopunción

Vectores: es un agente generalmente orgánico que sirve como medio de transmisión de un organismo a otro

Viruta: Se refiere a un pedazo de material residual, tal como el serrín

Xenobióticos: Se aplica a los compuestos cuya estructura química en la naturaleza es poco frecuente o inexistente debido a que son compuestos sintetizados por el hombre en el laboratorio

Xenotransplantes: es el trasplante de células, tejidos u órganos de una especie a otra, idealmente entre especies próximas para evitar rechazo, como de cerdos a humano

Zoonosis: es la infección o enfermedad del animal que es transmisible al ser humano en condiciones naturales o viceversa. El término deriva de dos vocablos griegos: zoon (“animal”) y nósos (“enfermedad”)



LITERATURA CITADA

Alonso, R.; Martí, M.; Constans, A. 1998. Trabajo con Animales de Experimentación. (en línea). Madrid, ES. Consultado 15 nov 2014. Disponible en

http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTecnicas/NTP/Ficheros/401a500/ntp_468.pdf

Álvarez, E.; Peratta, D. Sf. Manual de Bioseguridad Normas básicas de Higiene y Seguridad. (en línea). Pampa, Buenos Aires, AR. Consultado 28 oct 2014. Disponible en

http://www.vet.unlpam.edu.ar/archivos/ANEXO%20MANUAL%20BIOSEGURIDAD%20163-07_.pdf

Arch, E.; Collado, M.; Verduzco, A. 2004. Producción y Uso de Modelos Animales en el Campo de la Audiología. En: Cirugía y Cirujanos. Vol. 72. México, DF., MX. p 427 - 433. (en línea). Consultado 16 nov 2014. Disponible en

<http://books.google.com.ni/books?id=ZLIwFyjpr6cC&pg=PA428&dq=biotérios&hl=es&sa=X&ei=DewNVPL3KobOggTIzoL4DA&ved=0CB4Q6AEwAQ#v=onepage&q=biotérios&f=true>

Arrebola, A.; Fernández, R.; Suárez F.; Millán, S. 2010. Consideraciones Importantes Acerca de la Cuarentena de Ratas y Ratones como Biomodelos Experimentales en Toxicología. (en línea). Revista Veterinaria Argentina. Buenos Aires, AR. Consultado 3 nov 2014. Disponible en

<http://www.veterinariargentina.com/revista/2010/11/consideraciones-importantes-acerca-de-la-cuarentena-de-ratas-y-ratones-como-biomodelos-experimentales-en-toxicologia-revision/>

BEBS (Bioterio de la Escuela de Biotecnología y Salud). 2009a. Biología de Animales de Laboratorio. Tecnológico de Monterrey. MX. D. F. (en línea). Consultado 04 nov 2014. Disponible en

http://emcs.mty.itesm.mx/investigacion/centros/ciecs/descargar/Biologia_Animales_Laboratorio.pdf

_____ 2009b. Instalaciones de Bioterio. Tecnológico de Monterrey. MX. D. F. (en línea). Consultado 29 oct 2014. Disponible en

http://emcs.mty.itesm.mx/investigacion/centros/ciecs/descargar/Instalaciones_bioterio.pdf

_____ 2009c. Reglamentación: Bioterio. Tecnológico de Monterrey. MX. D. F. (en línea). Consultado 04 nov 2014. Disponible en

http://emcs.mty.itesm.mx/investigacion/centros/ciecs/descargar/Bioterio_Reglamento.pdf



Bencomo, L.; Alcalde, J.; Álvarez, E.; Fonte, N.; Ramírez, T. 2010. Manual de Zoonosis de Animales de Laboratorio. (en línea). Revista REDVET vol. 11. Habana, CU. Consultado 13 nov 2014. Disponible en

<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n111110/111015.pdf>

Bernal, M. 2005. Bioseguridad en el Trabajo con Animales. (en línea). Bogotá, CO. Consultado 28 oct 2014. Disponible en

<http://www.redbioriesgo.unal.edu.co/textos/Bioseguridad.pdf>

Boada, M.; Colom, A.; Castelló, N. 2011. Experimentación Animal. (en línea). Consultado 21 oct 2014. Disponible en

http://ddd.uab.cat/pub/trerecpro/2011/80084/la_experimentacion_animal.pdf

Bio Sev. 2014a. Las dietas animales. (en línea). Consultado 25 nov 2014. Disponible en

<http://www.bio-serv.com/>

Bio Sev. 2014b. Dispositivos de enriquecimiento. (en línea). Consultado 25 nov 2014. Disponible en

http://www.bio-serv.com/Rabbit_Enrichment_Devices/K3262.html

Camacho, R.; Espitia, C.; Mancilla, R.; Segura, E.; Castellanos, C. 2007. Manual de Procedimientos de Bioseguridad. UNAM. (en línea). México DF, MX. Consultado 20 nov 2014. Disponible en

https://www.biomedicas.unam.mx/administracion/unidades_apoyo_inst/manual_bioseguridad.pdf

Cardozo, C.; Mrad, A.; Martínez, C.; Rodríguez, E.; Lolas, F. 2007. El Animal como Sujeto Experimental Aspectos Técnicos y Éticos. (en línea). Santiago, CL. Consultado 01 Nov 2014. Disponible en

http://www.uchile.cl/documentos/el-animal-como-sujeto-experimental-pdf_51001_16_3809.pdf

Cardozo, C.; Mrad, A. Sf. Aspectos Técnicos y Éticos en el Cuidado y Uso de Modelos Animales en Investigación. (en línea). Bogotá, CO. Consultado 17 nov 2014. Disponible en

https://umshare.miami.edu/web/wda/ethics/PABI_Agendas/colombia/Modules/Module14487.pdf

Cervantes, R. 2012. Manual de Prácticas de Laboratorio de Manejo de Pequeños Mamíferos, Anfibios y Reptiles de Compañía. (en línea). Oaxaca, MX. Consultado 16 nov 2014. Disponible en

http://www.veterinaria.uabjo.mx/manuales/PEQ_MAMIFEROS/Practicas1-3.pdf



CONICYT (Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnología). 2008. Manual de Normas de Bioseguridad. (en línea). Segunda Edición. Santiago, CL. Consultado 25 oct 2014. Disponible en

http://investigacion.uach.cl/archivos/manual_bioseguridad_2008.pdf

CONICYT (Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnología). 2009. Aspectos Bioéticos de la Experimentación Animal. (en línea). 4to Taller de Bioética. Santiago, CL. Consultado 23 oct 2014. Disponible en

<http://www.conicyt.cl/documentos/bioetica19nov.pdf>

CCPA (Consejo Canadiense de Protección de los Animales). 1998. Manual Sobre el Cuidado y Uso de los Animales de Experimentación. Vol. 1. Ottawa, CA. (en línea). Consultado 15 oct 2014. Disponible en

<http://www.fcv.unl.edu.ar/comite/ManualesobreelcuidadoyusodeanimalesdeexperimentacionConsejo%20Canadiense.pdf>

CNCI (Comité Nacional del Consejo de Investigación). 2011. Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio. Octava edición. (en línea). Washington DC, US. Consultado 12 nov 2014. Disponible en

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK54045/>

ECastillo. 2013. Bioterio del Ivic produce mensualmente 4 mil animales de experimentación. (en línea). Caracas, VE. Consultado 19 oct 2014. Disponible en

<http://www.mcti.gob.ve/actualidad/noticias/bioterio-del-ivic-produce-mensualmente-4-mil-animales-de-experimentacion>

Fuentes, F.; Mendoza, R.; Rosales, A.; Cisneros, R. 2008. Guía de Manejo y Cuidado de Animales de Laboratorio: Ratón. (en línea). Lima, PE. Consultado 21 oct 2014. Disponible en

http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/GUIA_ANIMALES_RATON.pdf

García, E. 2007. Introducción a la experimentación Animal. (en línea). Habana, CU. Consultado 12 nov 2014. Disponible en

http://www.sld.cu/galerias/ppt/sitios/ofthalmologia-fac/intro_exp_animal_generalidades.ppt

García, M. 2009. Manual de Procedimientos. (en línea). México DF, MX. Consultado 31 oct 2014. Disponible en

http://emcs.mty.itesm.mx/investigacion/centros/ciecs/descargar/Manuales/Manual_procedimientos_bioterio.pdf



García, C.; Noyola, D.; Argüello, J. 2012. Manual de Bioseguridad para Laboratorios de Investigación Biomédica. Quinta edición. (en línea). San Luis Potosí, MX. Consultado 20 nov 2014. Disponible en

<http://www.genomica.uaslp.mx/Protocolos/Bioseguridad/MBLIB-v5.pdf>

Genovese, P. 2012. Bioterios y Laboratorios de Experimentación Animal (LEA). (en línea). Montevideo, UY. Consultado 21 nov 2014. Disponible en

http://www.urbe.fmed.edu.uy/cursos/animales_experimentacion/Macro%20y%20micro%20ambiente.pdf

Hernández, A. 2013. El Comité Institucional Ético para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio. (en línea). México DF. MX. Consultado 14 de nov 2014. Disponible en

http://www.uaeh.edu.mx/campus/icsa/noticias/2/docs/2013/2/comite_etico_del_uso_de_animales_de_laboratorio.pdf

Hernández, S. 2006. El modelo animal en las investigaciones biomédicas. (en línea). Montevideo, UY. Consultado 25 oct 2014. Disponible en

<http://www.um.edu.uy/docs/revistabiomedicina/2-3/modelo.pdf>

ICA (Instituto Colombiano Agropecuario). 2007. Manual de Buenas Prácticas de Laboratorio para el Registro ante el ICA. (en línea). Bogotá, CO. Consultado 30 oct 2014. Disponible en

<http://www.ica.gov.co/getdoc/b0200e17-d42f-4f50-b73f-5bd2bb60490d/Manual-de-buenas-practicas-de-lab-para-registro-an.aspx>

ILAR (Institute of Laboratory Animal Resources). 2008. Guía para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio. (en línea). México DF, MX. Consultado 24 oct 2014. Disponible en

http://emcs.mty.itesm.mx/investigacion/centros/ciecs/descargar/Manuales/Guia_%20cuidado_animales_laboratorio.pdf

INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria). Sf. Guía para Cuidado y Uso de Animales de Experimentación. (en línea). Buenos Aires, AR. Consultado 27 oct 2014. Disponible en

http://inta.gob.ar/documentos/manuales-sobre-cuidado-y-supervision-y-uso-de-animales/at_multi_download/file/INTA-

[%20Gu%C3%ADa%20cuidado%20y%20uso%20de%20animales.pdf](http://inta.gob.ar/documentos/manuales-sobre-cuidado-y-supervision-y-uso-de-animales/at_multi_download/file/INTA-%20Gu%C3%ADa%20cuidado%20y%20uso%20de%20animales.pdf)

Lijteroff, R. 2012. Bioterio Consideraciones Generales. Bioseguridad y Gestión Ambiental. (en línea). Buenos Aires, AR. Consultado 28 oct 2014. Disponible en

<http://sis.unsl.edu.ar/apuntes/bioseguridad/SEGURIDAD%20E%20HIGIENE/CLASE%2012%20BIOTERIO.ppt>



Majerowicz, J. 2013a. Bioseguridad en Bioterios de Experimentación Riesgo Biológico y niveles de Protección Parte I – Procedimientos y Practicas. (en línea). Consultado 14 nov 2014. Disponible en

<http://www.bioterios.com/2013/post.php?s=2013-08-15-bioseguridad-en-bioterios-de-experimentacin-parte-i>

_____ 2013b. Bioseguridad en Bioterios de Experimentación Riesgo Biológico y niveles de Protección Parte II. Equipamientos de Seguridad, Edificación y Recintos (Instalaciones). (en línea). Consultado 15 nov 2014. Disponible en

<http://www.bioterios.com/2013/post.php?s=2013-08-30-bioseguridad-en-bioterios-de-experimentacin-parte-ii>

Maruri, A.; Gonzáles, L. 2009. Bienestar Animal en Animales de Experimentación. (en línea). Buenos Aires, AR. Consultado 23 nov 2014. Disponible en

<http://es.slideshare.net/luisandresgonzalez/bienestar-animal-en-animales-de-laboratorio>

Membreño, H.; Rosa, M. 2009. Manual de Bioseguridad para Laboratorios Clínicos. (en línea). Tegucigalpa, HN. Consultado 03 nov 2014. Disponible en

<http://es.scribd.com/doc/61498781/50/H-LIMPIEZA-DE-BIOTERIOS>

Mendoza, D.; Salazar, L.; Bravo, L. 2013. Establecimiento de un protocolo de reproducción para la obtención de especímenes murinos embrionarios/fetales. (en línea). Bogotá, CO. Consultado 30 oct 2014. Disponible en

<http://revistas.lasalle.edu.co/index.php/mv/article/viewFile/2344/2266>

Millán, C. 2007. Bioterio. Programa de Biología. (en línea). Bogotá, CO. Consultado 11 nov 2014. Disponible en

http://www.uelbosque.edu.co/sites/default/files/pdf/laboratorios_biologia/descripcion_bioterio_biologia.pdf

MINSA (Ministerio de Salud). 2014. Nicaragua despunta con uno de los mejores laboratorios de investigación en salud. (en línea). Managua, NI. Consultado 22 oct 2014. Disponible en

<http://www.minsa.gob.ni/index.php/103-noticias-2014/662-nicaragua-despunta-con-uno-de-los-mejores-laboratorios-de-investigacion-en-salud>

Moraes, C.; Apolinário, C.; Moraes, E.; Majerowicz, J.; Rocha, J.; Pelajo, M.; Ferreira, M.; Siqueira, M.; Castro, M.; Mendes, M.; Carvalho, P.; Abreu, P.; Reís, S.; Valle, S.; Ramos, S.; Mairena, W.; Mendes, V. 2009. Conceitos e Métodos para Formação de Profissionais em laboratorios de Saúde. Vol. 1. (en línea). Consultado 22 nov 2014. Disponible en

<http://www.fiocruz.br/ioc/media/Livropoli.pdf>



Muñoz, A. 2009. Bioterio. (en línea). Consultado 4 nov 2014. Disponible en <http://avindustrias.com/files/BIOTERIO.ppt>

Neves, S.; Moura, F.; Duarte, L.; Alves, R.; Spalutto, R.; Oliveira, R. 2013. Manual de Cuidados e Procedimientos com Animais de Laboratório do Biotério de Produção e Experimentação da FCF-IQ/USP. (en línea). . Consultado 23 nov 2014. Disponible en <http://www.fo.usp.br/wp-content/uploads/Manual-Cuidados-com-Animais.pdf>

Núñez, R.; Navarro, W. 2011. Normas Jurídicas de Nicaragua. Ley para la Protección y el Bienestar de los Animales Domésticos y Animales Silvestres Domesticados. Gaceta No. 96. (en línea). Managua, NI. Consultado 11 nov 2014. Disponible en <http://legislacion.asamblea.gob.ni/normaweb.nsf/3133c0d121ea3897062568a1005e0f89/cf820e2a63b1b690062578b00074ec1b?OpenDocument>

Ochoa, L. 2001. Especificaciones Técnicas para la Producción, Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio. (en línea). México DF, MX. Consultado 09 nov 2014. Disponible en <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/principal/archivos/062ZOO.PDF>

OMS (Organización Mundial de la Salud). 1999. Guía para un Manual de Sistemas de Calidad en un Laboratorio de Prueba. (en línea). Ginebra, SW. Consultado 29 oct 2014. Disponible en <http://cdam.minam.gob.pe/publielectro/calidad%20ambiental/guiasistemascalidad.pdf>

OMS (Organización Mundial de la Salud). 2005. Manual de Bioseguridad en Laboratorio. 3ra edición. (en línea). Ginebra, SW. Consultado 13 oct 2014. Disponible en http://www1.paho.org/spanish/ad/ths/ev/lab-biosafety_omsspa.pdf?ua=1

OPS (Organización Panamericana de la Salud). 1968. Animales de Laboratorio. Guía para instalaciones y cuidado de animales de laboratorio. (en línea). Washington, DC, US. Consultado 29 oct 2014. Disponible en <http://iris.paho.org/xmlui/bitstream/handle/123456789/1202/40215.pdf?sequence=1>

Peralta, N. 2012. Manual Práctico para el Uso de Ratas en el Laboratorio del Instituto de Neuroetología de la Universidad Veracruzana. Tesis. Médico Veterinario Zootecnista. Universidad Veracruzana. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnista. México DF, MX. 46 p. (en línea). Consultado 27 oct 2014. Disponible en <http://cdigital.uv.mx/bitstream/123456789/30759/1/PeraltaLopez.pdf>

Sáiz, L.; García, J.; Compaire, C. 1983. Animales de Laboratorio Cría, Manejo y Control Sanitario. (en línea). Madrid, ES. Consultado 10 nov 2014. Disponible en <http://books.google.es/books?id=Jx68pDxBYAAC&pg=PA161&dq=biotérios&hl=es&sa=X&ei=dwIzVOSTKfWTsQSumYCoDA&ved=0CD4Q6AEwBg#v=onepage&q=biotérios&f=true>



Sancho, C. 2002. El Animalario en Nutrición Aplicada. En: Técnicas y Métodos de Investigación en Nutrición Humana. Capítulo 5. . Barcelona, ES. p 113 - 134. (en línea). Consultado 19 oct 2014. Disponible en

http://books.google.com.ni/books?id=qGA402PCFNsC&pg=PA117&lpg=PA117&dq=instalaciones+de+un+bioterio+o+animalario&source=bl&ots=eWt5gxvEs-&sig=kN8dJGbuVjQvGK39IIMG_CCPz48&hl=es&sa=X&ei=Hd9CVNWKayrjALVmoHwBA&ved=0CCYQ6AEwAg#v=onepage&q=instalaciones%20de%20un%20bioterio%20o%20animalario&f=false

SECAL (Sociedad Española para las Ciencias del Animal de Laboratorio). 1998. Refinamiento de la Estabulación de roedores: El Ratón. (en línea). Madrid, ES. Consultado 27 nov 2014. Disponible en

<http://www.secal.es/Refinamiento%20estabulacion%20raton-tipo=ficheros&id=30&nombre=Refinamiento%20estabulacion%20raton.pdf.pdf>

Tovar, J. 2010. Manual de Funcionamiento Interno del Bioterio. Bogotá, CO. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. (en línea). Consultado 21 oct 2014. Disponible en

<http://adiecs.files.wordpress.com/2010/02/manual-de-funcionamiento-interno-del-bioterio1.pdf>

UAMUX (Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco). 2004. Manual de procedimientos de la Unidad de Producción de Animales de Laboratorio UPEAL-Bioterio. División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Sesión 17/04. (en línea). México, DF. MX. Consultado 06 nov 2014. Disponible en

<http://www.xoc.uam.mx/static/uploads/original/application/imagen/manual-procedimientos-upeal-bioterio.pdf>

UNAN (Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua). 2014. Bioterio en la UNAN-Managua. (en línea). Managua, NI. Consultado 21 oct 2014. Disponible en

<http://www.unan.edu.ni/index.php/80-noticias/2602-bioterio-en-la-unan-managua>

Universidad Veracruzana. 2014. Reglamento Interno Bioterio de Enseñanza. Faculta de Química Farmacéutica Biológica. (en línea). México DF, MX. Consultado 29 oct 2014. Disponible en

<http://www.uv.mx/qfb/files/2014/02/Reglamento-Bioterio-de-Ensenanza-2014-QFB.pdf>



Vega, E. 1988. Apuntes sobre Cría, Manejo, Patología y Uso de Animales de Laboratorio. IICA. (en línea). Consultado 31 oct 2014. Disponible en <http://books.google.com.ni/books?id=IuoqAAAAYAAJ&pg=PA5&dq=biotérios&hl=es&sa=X&ei=DewNVPL3KobOggTIzoL4DA&ved=0CBoQ6AEwAA#v=onepage&q=biotérios&f=true>

Vega, M. 2002. Caracterización de los Biotérios Utilizados en Investigación Científica. Tesis. Lic. Microbiología y Química Clínica. Universidad de Costa Rica. Facultad de Microbiología. San José, CR. 132 p. (en línea). Consultado 13 nov 2014. Disponible en <http://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080/jspui/bitstream/123456789/1027/1/22581.pdf>

Victoria, M.; Morón, F. 2010. Bioética en Experimentación Animal para Validar usos de Plantas Medicinales en el Laboratorio Central de Farmacología. (en línea). Habana, CU. Consultado 12 nov 2014. Disponible en http://www.bvs.sld.cu/revistas/pla/vol_15_3_10/pla08310.htm

