

Manual para el manejo adecuado de animales de laboratorio

Paola Sabina Contreras R.



Esta obra se encuentra disponible en Acceso Abierto para copiarse, distribuirse y transmitirse con propósitos no comerciales. Todas las formas de reproducción, adaptación y/o traducción por medios mecánicos o electrónicos deberán indicar como fuente de origen a la obra y su(s) autor(es). Se debe obtener autorización de la Universidad Veracruzana para cualquier uso comercial. La persona o institución que distorsione, mutile o modifique el contenido de la obra será responsable por las acciones legales que genere e indemnizará a la Universidad Veracruzana por cualquier obligación que surja conforme a la legislación aplicable.

**MANUAL PARA EL MANEJO ADECUADO DE ANIMALES
DE LABORATORIO**

UNIVERSIDAD VERACRUZANA

SARA LADRÓN DE GUEVARA

Rectora

MARÍA MAGDALENA HERNÁNDEZ ALARCÓN

Secretaria Académica

SALVADOR TAPIA SPINOSO

Secretario de Administración y Finanzas

OCTAVIO OCHOA CONTRERAS

Secretario de Desarrollo Institucional

ÉDGAR GARCÍA VALENCIA

Director Editorial

MANUAL PARA EL MANEJO ADECUADO DE ANIMALES DE LABORATORIO

PAOLA SABINA CONTRERAS R.



Universidad Veracruzana
Dirección Editorial

Clasificación LC: SF406 C66 2020
Clasif. Dewey: 636.0885
Autor: Contreras Romo, Paola Sabina.
Título: Manual para el manejo adecuado de animales de laboratorio / Paola Sabina Contreras R.
Edición: Primera edición.
Pie de imprenta: Xalapa, Veracruz, México : Universidad Veracruzana, Dirección Editorial, 2020.
Descripción física: 90 páginas : ilustraciones ; 23 cm.
Serie: (Textos Universitarios)
Notas: Glosario: páginas 85-86.
Incluye bibliografía (páginas 87-90) e índices.
ISBN: 9786075028743
Materia: Animales de laboratorio.

DGBUV 2020/35

Diseño de colección: Aída Pozos Villanueva
Diseño de forros: Enriqueta del Rosario López Andrade

Primera edición: 3 de diciembre de 2020

D. R. © Universidad Veracruzana
Dirección Editorial
Nogueira núm. 7, Centro, CP 91000
Xalapa, Veracruz, México
Tels. 228 818 59 80; 228 818 13 88
direccioneditorial@uv.mx
<https://www.uv.mx/editorial>

ISBN: 978-607-502-874-3

DOI: 10.25009/uv.2593.1604

Publicación apoyada con recursos PROFEXCE 2020

Impreso en México / Printed in Mexico

CONTENIDO

Introducción.....	13
1. Los animales de laboratorio	15
2. Seguridad física del animal de laboratorio.....	19
3. Seguridad física del manejador	21
4. Roedores	23
5. Lagomorfos	31
6. Datos reproductivos de ratas, ratones y conejos.....	37
7. Identificación del dolor y analgesia	39
8. Analgesia, anestesia y eutanasia	45
9. Manejo de animales de laboratorio	51
10. Bienestar animal	75
11. CICUAL	81
Glosario	85

Bibliografía	87
Índice de imágenes	91
Índice de cuadros	93

Podemos juzgar el corazón de una persona por la forma en que trata a los animales.

IMMANUEL KANT

AGRADECIMIENTOS

Al director de la Facultad de Medicina, doctor Alberto Navarrete Munguía, por su soporte para la realización del presente; al MVZ José Luis Márquez quien ha donado su tiempo y conocimiento en beneficio de todos en el bioterio; a la talentosa Alma Hernández por las imágenes; a cada individuo que me ha enseñado algo en determinado momento de esta vida académica.

INTRODUCCIÓN

El objetivo de este manual es ofrecer una herramienta de consulta sencilla y práctica a estudiantes y profesionistas de la Universidad Veracruzana, que en algún momento de su desempeño académico requieran de la utilización de animales de laboratorio.

Ofrece una guía de consulta que contiene los aspectos más relevantes en cuanto al manejo de animales de laboratorio con un sentido ético, y también pretende reforzar los conocimientos que, en la mejor situación, se adquieren como parte del programa de capacitación de estudiantes, académicos y personal de apoyo que está o estará en contacto con animales de laboratorio.

Asimismo, se documentan los conocimientos básicos requeridos para manipular estos animales, siempre con el propósito de evitar el desarrollo de ansiedad entre ambas partes: el que manipula al ejemplar y el propio ente biológico. Es la forma de evitar accidentes y sufrimiento innecesario, bajo la premisa de que eso es lo justo a cambio del beneficio obtenido. Trabajar, practicar o experimentar con animales no debe considerarse como un derecho, sino como un privilegio para el humano.

El manual inicia con la descripción de tres especies de animales de laboratorio (ratas, ratones y conejos) que son las que frecuentemente se mantienen en los bioterios de la Universidad Veracruzana. A continuación, se consideran los aspectos más relevantes relacionados con la seguridad física de los animales y de aquellas personas que los manipulan con diferentes objetivos académicos. Se hace énfasis en la identificación del grado de dolor que se pudiera ocasionar utilizando la escala Grimace, conocida internacionalmente como un parámetro de comparación. Con el mismo propósito, se citan algunos analgésicos, anestésicos y fármacos particulares para estas especies y su uso de acuerdo con la Norma Ofi-

cial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Para concluir este apartado, se puntualizan las situaciones que ameritan provocar la eutanasia y se hace referencia a los métodos permitidos así como a los prohibidos.

En los capítulos siguientes se describen los conceptos básicos de anatomía, fisiología, alimentación, manejo y sujeción, administración de compuestos y toma de muestras biológicas de roedores (rata y ratón) y lagomorfos (conejos).

Por último, se dan a conocer algunas consideraciones relacionadas con el bienestar animal en la forma recomendada por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL). El manual finaliza con el listado de referencias incluidas en el texto y un glosario de términos.

1. LOS ANIMALES DE LABORATORIO

La enseñanza y la investigación en las ciencias de la salud requieren con frecuencia del uso de animales para experimentación, por lo que es necesario contar con un espacio o bioterio en donde se produzcan y mantengan aquellas especies que cumplan las condiciones requeridas en el protocolo de investigación y en el manual de prácticas. Las actividades y las condiciones del bioterio están reglamentadas en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, respaldada por la Ley de Protección Animal para el Estado de Veracruz, y concretamente para esta ciudad en el Reglamento de Bienestar y Protección a los Animales para el Municipio de Xalapa, Veracruz.

De acuerdo con los informes de la British Royal Society, la mayoría de los descubrimientos y avances médicos del siglo xx se han logrado mediante protocolos de investigación que utilizan modelos animales. Algunas organizaciones, que velan por los derechos de los animales, cuestionan la legitimidad de esos resultados, sosteniendo que son prácticas crueles y que es poca la relación con los efectos en los seres humanos, que los gastos superan a los beneficios o que los animales tienen un derecho intrínseco a no ser utilizados para la experimentación. Aunque estas organizaciones reconocen la necesidad y el valor de esta dirigida a mejorar y a prevenir enfermedades; por ejemplo, se recomienda acudir a otras alternativas como el modelaje computarizado o incluso otros modelos biológicos como el cultivo de tejidos, piel humana sintética, células, entre otros. A la fecha, no se ha logrado reemplazar la complejidad de un ser vivo (conjunto de moléculas, células, tejidos, órganos y sistemas) para probar productos de investigación que así lo pretendieran. En consecuencia, la mayor parte de los países ha optado por establecer leyes y normas que estandaricen un método de trabajo adecuado que cause en el animal el mínimo dolor, angustia o sufrimiento.

A partir de esas leyes se establece que cada individuo debe tratarse con respeto, como el ser vivo que es. Pues, al igual que los humanos, los animales reaccionan y responden de acuerdo con lo que perciben, de manera que es necesario que antes de llevar a cabo cualquier práctica, se conozcan los aspectos básicos del animal y *se considere como un privilegio, no un derecho* el usar a un animal para fines de aprendizaje o investigación.

Desde luego que si la finalidad es mejorar y preservar las condiciones de salud de la especie humana, el mejor modelo experimental es el propio ser humano. La historia nos relata horrores ya vividos y superados, por ejemplo, durante el Holocausto, en donde seres humanos fueron sometidos a prácticas crueles y atroces que cuando fueron conocidas dieron origen a los Códigos de Núremberg y de Helsinki, para converger en leyes de Salud, en las que con toda claridad se establecen los lineamientos que permiten realizar algunos estudios en seres humanos. Más recientemente, esas leyes incluyen también apartados dedicados al uso de animales de laboratorio.

La historia relata que las especies animales empleadas en investigación y en enseñanza biológica y conductual han sido notablemente diversas. Estas especies incluyen batracios (ranas), quelonios (tortugas), moluscos (caracol marino y calamar), caninos (perros), felinos (gatos), aves (palomas), algunos primates no humanos (chimpancés y macacos), roedores (rata, ratón, hámster), lagomorfos (conejo) y el pez cebra, por citar solo algunas.

Los costos, objetivos y finalidades de la investigación, pero sobre todo la ética, han determinado el desuso de algunas de estas especies y la preferencia por otras. En todo caso la investigación en estas especies adquiere validez si se tiene en cuenta que los tejidos celulares funcionan de un modo semejante en todas las especies animales, lo cual nos lleva a una observación fundamental; si los tejidos de estas especies funcionan de manera semejante a como ocurre en la especie humana, también son capaces, como lo señaló sabiamente Charles Darwin (1809-1892), de experimentar emociones (a su nivel de desarrollo evolutivo, claro está) y para el tema de este manual es conveniente destacar que las diferentes especies experimentan dolor y sufrimiento, tal y como en 1975 Peter Singer describió la

liberación animal y más adelante, en 1992, Donald R. Griffin retomó el tema en su libro *Animal Minds*.

LOS CONEJOS EN LA INVESTIGACIÓN

La similitud entre la fisiología del conejo y la del humano ha hecho de este mamífero un buen modelo para la investigación de ciertas enfermedades humanas relacionadas con la inmunología, así como para la experimentación y el diseño de tratamientos contra enfermedades circulatorias. Se han empleado para estudiar el efecto y las sustancias que pueden aplicarse en caso de infecciones de oído medio e interno. Además, como modelos para elaboración del suero antiofídico, para pruebas de injertos en el nervio facial, en experimentos a nivel molecular, en enfermedades cardiovasculares, en regeneración ósea, implantes, como modelo de antígenos, entre otros. También se han empleado para el estudio de patologías como el glaucoma, la presión intraocular o como reactivos para pruebas de irritación ocular. Un notable ejemplo de su utilidad es que gracias a estas pruebas se han logrado trasplantes exitosos de córnea en países desarrollados. Obviamente se han estudiado para comprender su ciclo biológico, su reproducción, puntualizando características muy particulares de la especie preservadas en su comportamiento.

Para fines educativos, los conejos se han utilizado también en prácticas de vivisección, lo cual está prohibido en educación básica y cuestionado en niveles superiores en el estado de Veracruz. En el caso permitido (licenciatura en adelante y desde luego investigación), por ser un modelo relativamente económico y con alta tasa reproductiva en un corto tiempo, el conejo se continúa utilizando en modelos quirúrgicos de apendicectomía, laparoscopia, facoemulsificación (operación de cataratas), modelos de diabetes y arterioesclerosis, entre otras prácticas.

LOS RATONES Y LAS RATAS EN LA INVESTIGACIÓN

Los ratones y las ratas son los mamíferos roedores más utilizados en la investigación biomédica en el mundo. Su tamaño, ciclo de vida, similitudes fisiológicas con el humano, su fácil manipulación, así como su disposición y bajo costo de mantenimiento los han hecho ejemplares ideales para la investigación. Las cepas que se crían son variadas e incluso manipuladas genéticamente. Los ratones han apoyado en los proyectos para combatir algunos tipos de cáncer como leucemia, de glándula mamaria y otros tumores humanos; estudios relacionados con el sistema inmune, en tratamientos de fertilidad, para la creación de productos biológicos incluyendo estudios a largo plazo de exposición a drogas, además de ensayos de seguridad en hembras gestantes, lactantes y recién nacidos, sin dejar de lado sus aportes para la neurobiología. También se han aprovechado para comprender el desarrollo y evolución de infecciones crónicas como la enfermedad de Chagas, pruebas de antibióticos contra bacterias, como modelo de inmunodeficiencia. En histopatología, se han realizado pruebas para inducir la disminución del dolor; en pruebas de toxicología, mutaciones genéticas, enfermedades cardiovasculares, afecciones de traumatología, entre muchas más.

Las ventajas de realizar experimentos con ratas y ratones de laboratorio consiste en que por ser pequeños, la cantidad de químicos utilizada es mínima y, por lo tanto, redituable. Generalmente son dóciles (en especial la especie *Rattus rattus*), con una gesta de 21 días con múltiples crías (entre 8 y 10 por camada). Es relevante precisar que su sistema inmunitario y su genoma son parecidos al del humano, razón por la cual es posible reproducir las mismas patologías que afectan la salud y, por lo tanto, las respuestas terapéuticas con fármacos que alivien al modelo podrían ayudar a la especie humana.

Por otro lado, estandarizar las especies utilizadas en actividades experimentales permite su reproducción internacional, de manera que las observaciones son las mismas, lo que ayuda a sustentar los resultados y poder trasladarlos a la etapa clínica.

2. SEGURIDAD FÍSICA DEL ANIMAL DE LABORATORIO

Los animales de laboratorio son vulnerables a infecciones externas o cruzadas, que pueden provenir de:

1. La introducción de otras especies en un mismo lugar
2. Animales de otras procedencias
3. El personal que los rodea
4. Ropa del manipulador infectada o con vectores (pulgas, chinches)
5. Los fómites
6. El ambiente por donde se mueve o se alberga
7. Una alimentación con vegetales sin desinfectar
8. El contacto físico con microorganismos en la piel o mucosas
9. El apareo no controlado
10. Transfusión de sangre o contacto
11. Por el agua
12. Por inoculación sin cuidado posterior

3. SEGURIDAD FÍSICA DEL MANEJADOR

Los trabajadores del bioterio o aquellos que manejen animales de laboratorio siempre deberán:

1. Usar ropa limpia
2. Llevar las manos lavadas antes de entrar a trabajar con ellos
3. Tomar un baño antes y después de la jornada laboral
4. Utilizar ropa específica como bata, botas, overol o ropa de trabajo, gorro
5. Guantes y cubrebocas obligatorio
6. En caso de enfermedad, evitar el contacto con los animales del laboratorio
7. Es recomendable tener todo el equipo de protección apropiado antes de manipular al animal

4. ROEDORES

ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DE RATAS Y RATONES

La mayoría de los roedores son cuadrúpedos, pequeños y de patas cortas; lo que los caracteriza son sus incisivos afilados (imagen 1). Los ratones (*Mus musculus*) y las ratas (*Rattus norvegicus*) que se utilizan para experimentación pertenecen a los mamíferos, dentro del orden Rodentia, de la familia Muridae, con tendencia a ser nocturnos, generalmente omnívoros, de una naturaleza no agresiva y adaptables.

El esqueleto de los roedores (imagen 2) corresponde al de un cuadrúpedo que se desplaza corriendo, con una constitución redondeada, patas posteriores más largas que las anteriores, que son cortas, plantígradas y de cola larga sin pelo. El cráneo de las ratas protege un cerebro de 1.8 g/250 g, con un volumen de 1.2 ml/250 g, y se caracteriza por un desarrollo del aparato masticatorio prácticamente sin igual entre los mamíferos, que lo hace característico del nombre “roedores”, es decir, que desgarran con los incisivos que continúan creciendo a lo largo de su vida. Esta peculiaridad explica la necesidad de cierta dureza en el alimento y material de enriquecimiento ambiental, a fin de desgastar y mantener el tamaño de los dientes dentro de lo funcional.

El cerebro de los ratones pesa 0.4 g. El hueso nasal es normalmente grande y se extiende hacia adelante, en función de que los sentidos del olfato y del oído están muy desarrollados; sin embargo, las ratas tienen una limitada visión. Las ratas difieren de los ratones no solo biológicamente, sino también en que aquellas son más complacientes y pueden vivir solas, cualidades que hay que considerar para su alojamiento, mientras que dos ratones machos juntos pueden llegar a competir severamente.

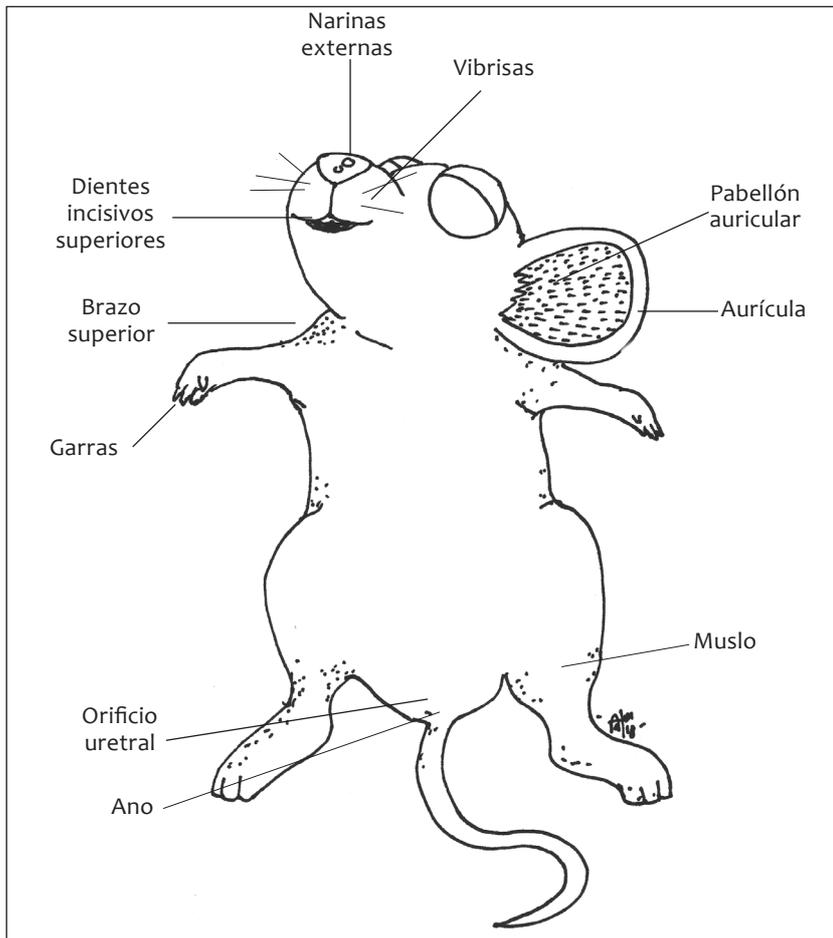


IMAGEN 1. Anatomía externa de un roedor.

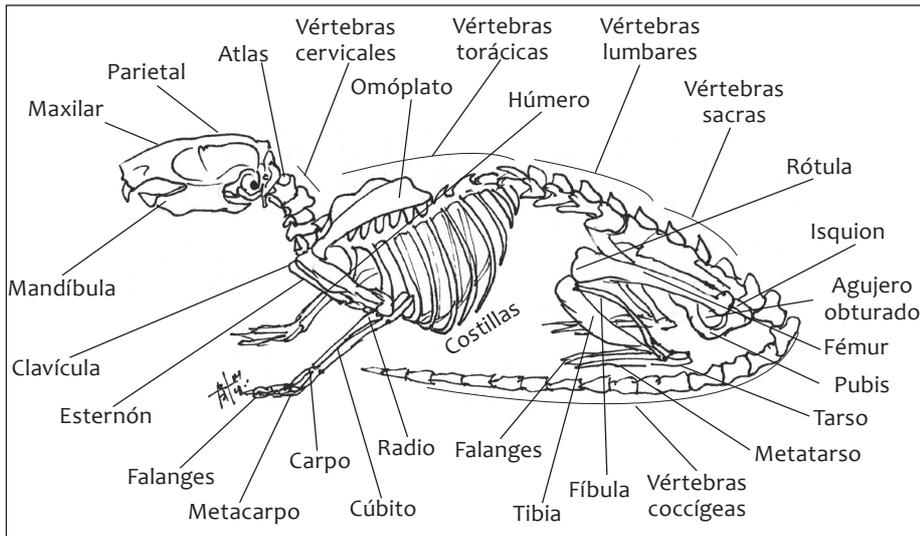


IMAGEN 2. Esqueleto de una rata.

El sistema genitourinario de los machos cuenta con un hueso peneano mientras que las hembras tienen un útero doble (bicorne). Los genitales de las hembras se encuentran localizados cerca del orificio anal, con la uretra generalmente a 0,6 cm ($\frac{1}{4}$ pulgada) del ano en una hembra adulta. Además, las hembras tienen el orificio vaginal justo detrás de la uretra (imagen 3a). Los genitales de los machos (imagen 3b) están mucho más lejos del ano respecto a las hembras, y desde su pubertad se pueden observar testículos, lo que permite una diferenciación por sexo desde etapas muy tempranas de la vida. Es posible que al intentar sujetarlos, se retraigan los testículos, en cuyo caso se deberá dejar que el animal camine un poco y agacharse para observarlos, aunque el mejor momento para revisarlos es cuando están comiendo. Sin embargo, la ausencia de testículos no significa que el ratón sea una hembra. Siempre hay que revisar la presencia de pezones; normalmente las hebras tienen 10 y los machos, ninguno.

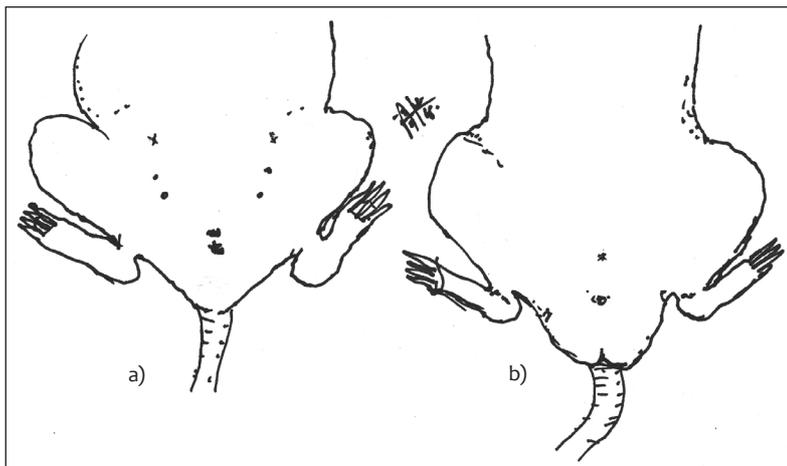


IMAGEN 3 (a y b). Sexado en ratones y ratas: a) hembras, b) machos.

El primer paso para determinar el sexo del roedor es evitarle un momento de angustia o dolor. Si es un ratón, se saca de la caja tomándolo de la parte media de la cola y se coloca sobre una superficie lisa; se levanta la cola suavemente para que deje expuestos sus genitales (imagen 4). Es importante que siempre mantenga las dos patas delanteras sobre una superficie y evitar que todas sus patas estén en el aire. El ano es el orificio que se encuentra justo debajo de la cola. En el caso de las ratas, se sujeta (como se indica más adelante) con toda la mano y se voltea hacia arriba suavemente; en un animal relajado, los testículos se observarán claramente de un color rosado.

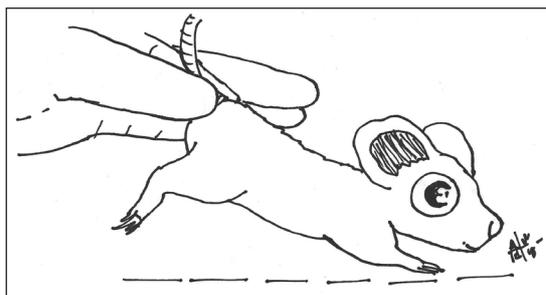


IMAGEN 4. Apreciación de genitales en ratones.

Respecto a la reproducción, los ciclos estrales son sensibles a la luz, de manera que una iluminación constante provoca el anestro –permanentemente– y ovarios poliquísticos en ratas. En los ratones, los ciclos anormales de luz pueden ser un factor para evitar la reproducción o abandonar a las crías. En roedores, el útero tiene un par de cuernos uterinos que se encuentran completamente separados (imagen 5); el sistema urogenital de la rata macho se compone básicamente de riñones, ureteros, vejiga, vesícula seminal, glándula prostática, testículo y pene (imagen 6).

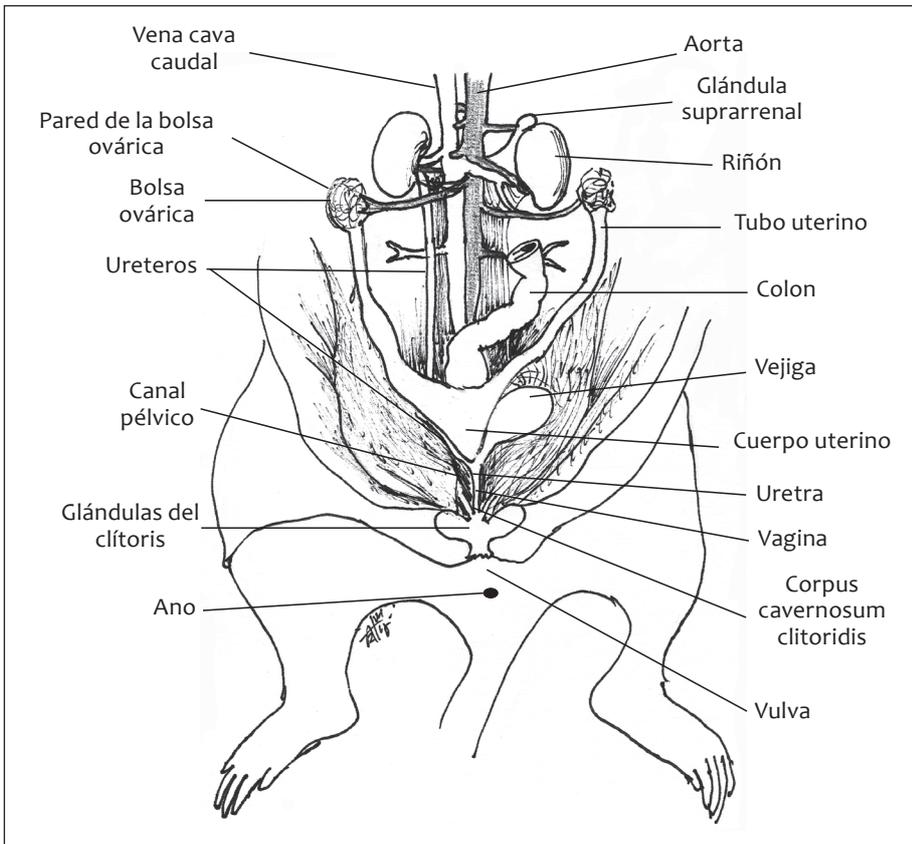


IMAGEN 5. Sistema urogenital de una rata hembra.

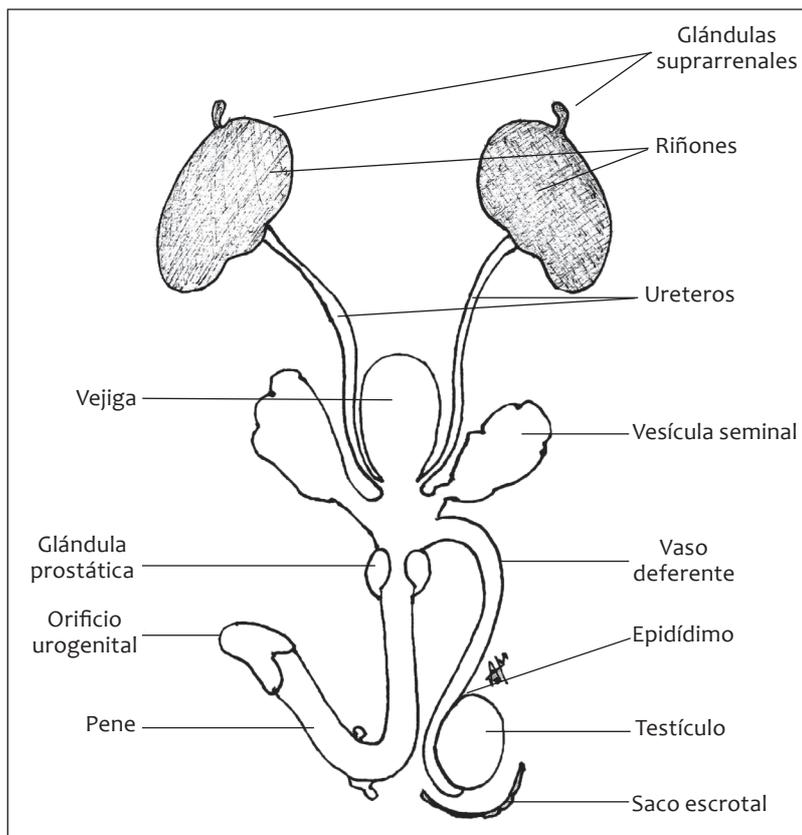


IMAGEN 6. Sistema urogenital de una rata macho.

Los ratones hembras producen feromonas que atraen la atención de los machos, quienes ocasionalmente responden al llamado con vocalizaciones (ultrasónicas) imperceptibles para el oído humano. Las hembras llegan a su madurez sexual a las 6 semanas de vida mientras que los machos tardan de una a dos semanas más; la gestación dura de 19 a 21 días, pariendo de 10 a 12 crías ciegas y sordas. La madurez sexual de las ratas es de 10 a 12 semanas, con una gestación de 20 a 22 días y una camada de 3 a 18 crías.

Los roedores son principalmente herbívoros, aunque gracias a su alta tasa reproductiva y a su capacidad de adaptación, se han vuelto omnívoros. En el caso

de animales de experimentación, su alimentación es a base de pienso (pellets) con la cantidad equilibrada de cereales, verduras y fibra en mayor o menor cantidad, dependiendo si son elaborados para crías o para adultos. Su sistema digestivo está provisto de enzimas y otras sustancias químicas que fermentan el alimento, lo degradan para finalmente absorberlo y excretarlo (imagen 7). Los latidos de su corazón van de los 250 a los 450 por minuto en ratas y de 500 a 600 en ratones.

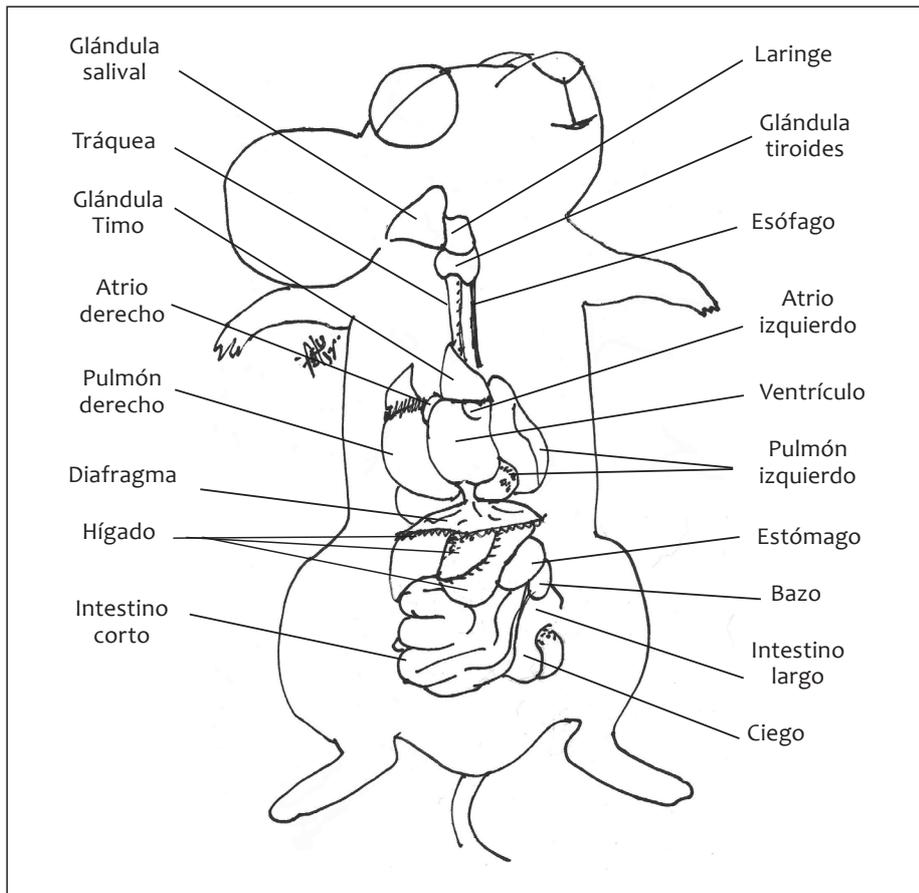


IMAGEN 7. Sistema digestivo de una rata.

5. LAGOMORFOS

ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA

Los conejos (*Oryctolagus cuniculus*) están clasificados dentro del orden Lagomorpha, de la familia Leporidae, cuya característica distintiva son sus incisivos rombos y alargados, cabeza ovalada, largas orejas y ojos grandes. Su promedio de vida es de hasta 10 años en un bioterio o en granjas cuniculoras. Los músculos del conejo son fuertes, especialmente en las extremidades posteriores (imagen 8), aunque su esqueleto es frágil y liviano (imagen 9), con las extremidades posteriores adaptadas para el salto, lo que le hacen susceptible a fracturas de la columna vertebral ante movimientos bruscos o caídas. Son animales de hábitos nocturnos y crepusculares, pasando la mayor parte del día alimentándose y durmiendo. En condiciones naturales viven dentro de largas y rebuscadas madrigueras, compartiendo el espacio con seis o diez individuos, aunque llegado el momento del apareo, los machos establecen quién tiene prioridad para ello.

La mejor edad para determinar su sexo es alrededor de los 4 a 6 meses, sentando al conejo y presionando el pubis con suavidad.

El desarrollo de sus órganos sexuales es notorio hasta después de los 45 días de nacidos, tiempo en el cual también se observan las características adultas de la vulva que tiene forma de pirámide, en el caso de la hembra (imagen 10a), mientras que el pene de un macho adulto tiene forma tubular. Las hembras tienen dos ovarios y el útero en forma de dos cuernos bifurcados, lo que les permite almacenar múltiples embriones. Son poliéstricas continuas, con ovulación inducida, es decir, requieren de la monta para poder ovular. Es conveniente presentar la hembra al macho algunos días previos para inducir la aceptación y que la cópula se lleve a cabo exitosamente.

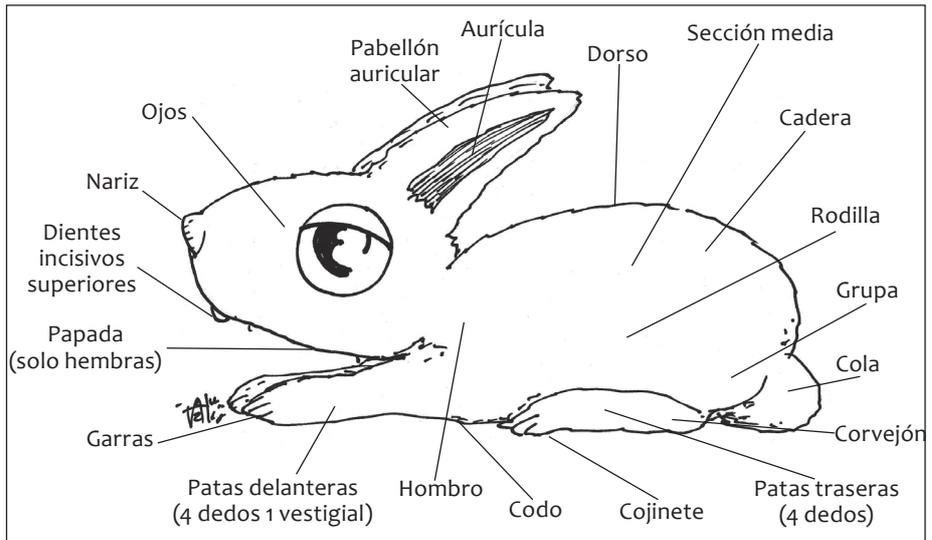


IMAGEN 8. Anatomía externa de un conejo.

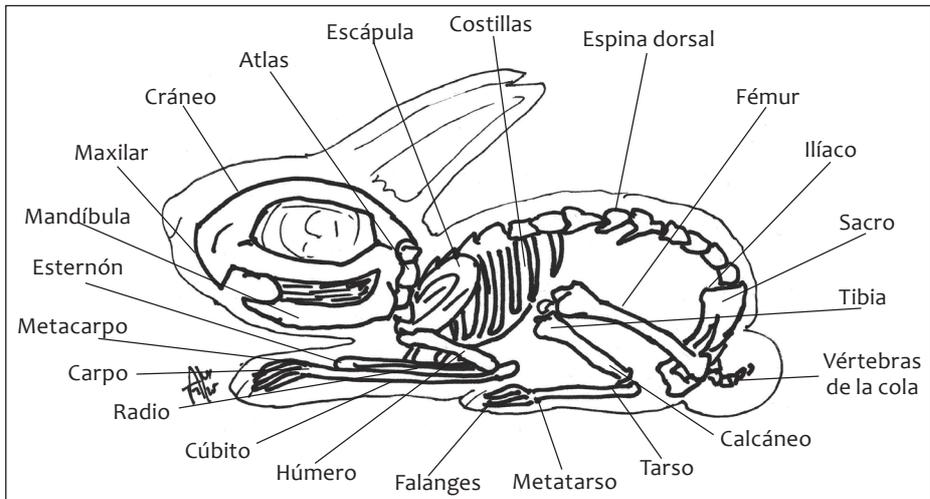


IMAGEN 9. Esqueleto de conejo.

Cuando las hembras entran en celo la vulva se torna de color púrpura o enrojecida, se le nota inquieta frotando su barba en las paredes de la jaula y si está receptiva, al colocarla con el macho inmediatamente aceptará copular. La gestación puede durar de 28 a 35 días con cambios estacionales relacionados con la temperatura ambiental y la luz; llegan a procrear hasta 8 gazapos, pariendo generalmente en la madrugada. La buena calidad del nido reducirá la mortandad y las crías son retiradas a las tres semanas de edad aproximadamente. La coneja solo entra al nido una o dos veces al día durante 3 minutos para amamantar a los gazapos, permaneciendo el resto del tiempo ajena y fuera del nido. El destete se realiza a los 30 días de lactación o antes para evitar la agresión por parte de la madre.

Los machos (imagen 10b) tienen el escroto por delante del pene y no tiene hueso peneano. La producción de espermatozoides se inicia a los 3 meses de edad, y adquieren la madurez sexual a los 4 meses. La mejor edad para la primera cubrición es alrededor de los 5 a 6 meses, cuando alcanzan un peso de 3,5 a 4,5 kilogramos.

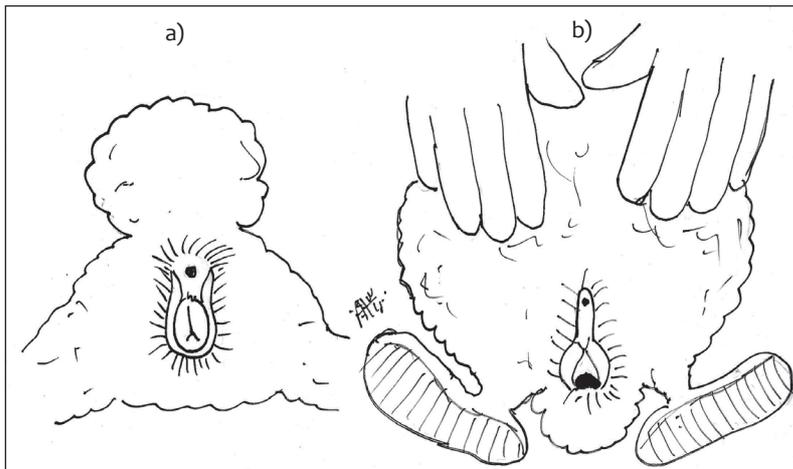


IMAGEN 10 (a y b). Identificación de sexos: a) hembra; b) macho.

La base de su alimentación es forraje y avena (u otro grano en pastura seca) a libre demanda, y pienso (pellets) comercial de acuerdo con su edad. El sistema digestivo (imagen 11) del conejo es delicado para ser intervenido quirúrgicamente por su tendencia a la formación de gases e inflamación posoperatoria. Su función comienza con la masticación del alimento (llegando a 120 movimientos de

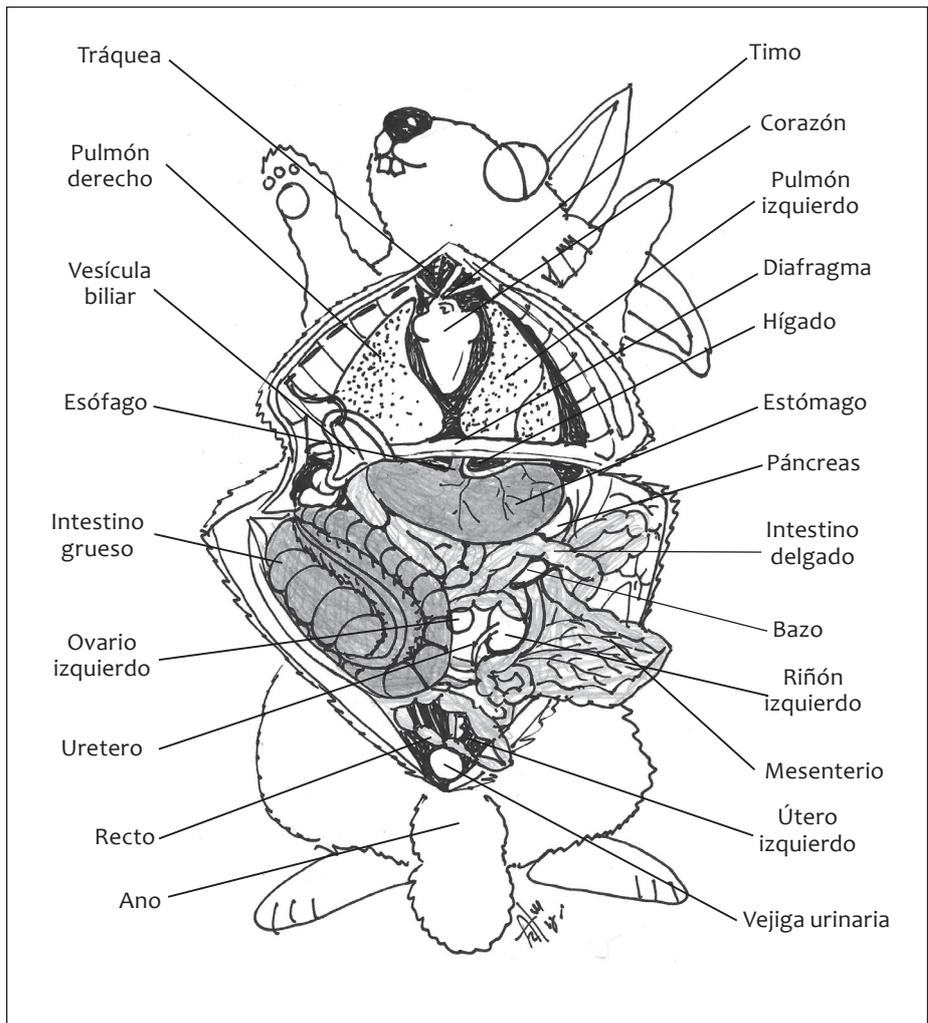


IMAGEN 11. Sistema digestivo de conejo.

mandíbula por minuto) para reducirlo a partículas pequeñas que se almacenan en el estómago, pasan del intestino delgado, que es el principal lugar de digestión y absorción, al intestino grueso en donde se lleva a cabo la fermentación, la excreción selectiva de fibra y la reingestión del contenido cecal, que es ingerido entero sin masticar. La cecotrofia es la reingestión de moco con sus heces directamente del ano, una práctica normal entre los conejos que les ayuda a recuperar o conservar la vitamina B, a absorber mejor las proteínas y a recuperar el agua de las heces. Su sistema genitourinario consta de varios órganos ubicados en la cavidad abdominal y pélvica, conectados al exterior con un órgano copulador: vagina (imagen 12) o pene (imagen 13).

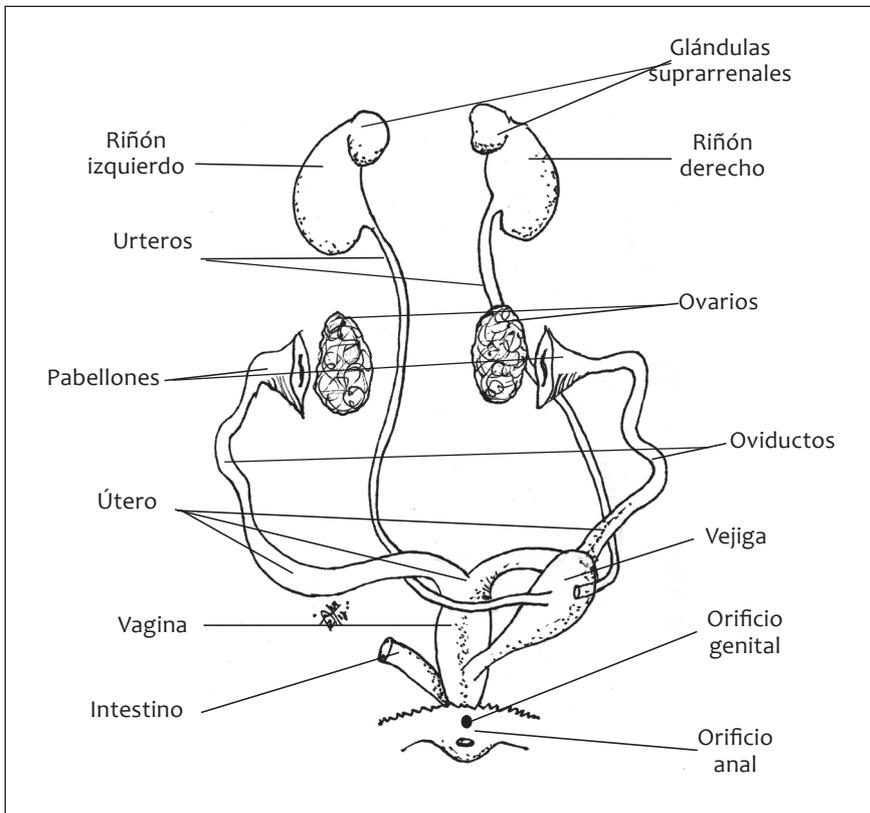


IMAGEN 12. Sistema urogenital de conejo hembra.

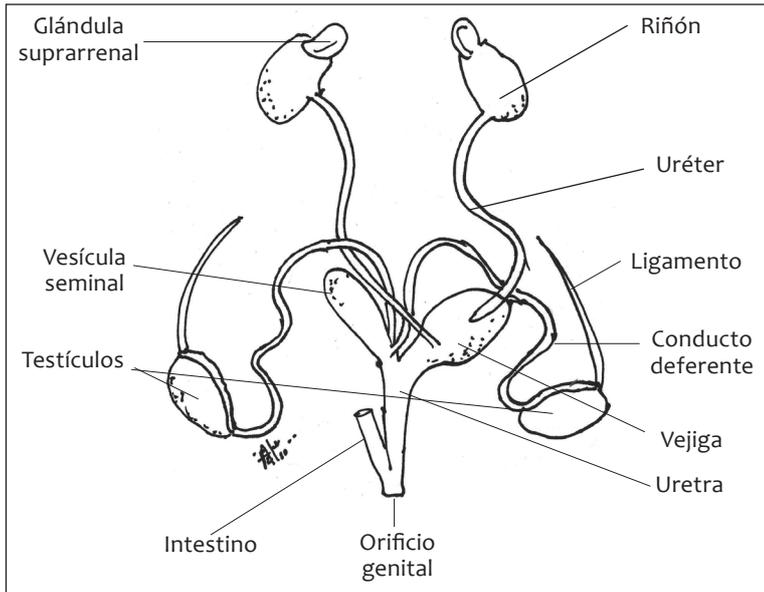


IMAGEN 13. Sistema urogenital de conejo macho.

6. DATOS REPRODUCTIVOS DE RATAS, RATONES Y CONEJOS

Los ciclos biológicos comprenden la duración del ciclo estral de la hembra y su gestación. Estos ciclos varían de acuerdo con la conducta, la socialización, la luz, la temperatura del cuarto y otras condiciones físicas que deben cuidarse.

Los ciclos estrales se forman de cuatro etapas llamadas diestro, metaestro, estro y proestro, de manera que cada ciclo se inicia con el diestro. En esta primera etapa los ovarios están prácticamente inactivos, es decir, los niveles de hormonas gonadales están considerablemente bajos. En cambio, en el proestro ocurre la ovulación, pues los niveles de estradiol y de progesterona están elevados y la hembra está en una etapa en la que puede ocurrir la fecundación, es decir, está en su etapa fértil. El periodo de gestación es el tiempo en que tarda en desarrollarse el embrión dentro del útero de la madre desde la fecundación hasta el nacimiento. Algunos datos reproductivos que se tienen que considerar cuando se trabaja con animales de laboratorio son los ciclos reproductivos, los factores ambientales involucrados, los pesos corporales de acuerdo con el crecimiento, la vida reproductiva y la longevidad, considerando que el animal tiene un cuidado adecuado (cuadro 1).

CUADRO 1. Datos reproductivos de roedores y lagomorfos

Evento	Ratón	Rata	Conejo
Gestación	19-21 días	21-22 días	28-35 días
Número de crías	8-12	6-10	1-12 gazapos
Lactancia	21 días	21 días	25-30 días
Peso al destete	10-12 gramos	40-60 gramos	300-400 gramos

Continúa cuadro 1

Evento	Ratón	Rata	Conejo
Edad a la pubertad	30-40 días	70-80 días	4-5 meses
Madurez reproductiva	40-60 días	65-110 días	6-8 meses
Peso del adulto	25-30 gramos	200-500 gramos	2-5 kilos
Vida productiva	1 año	1 año	3 años
Longevidad	2 años	2.5 años	6-8 años

Nota: recuperado de J. A. Navarro Hernández, R. A. Ramírez Ojeda y C. Villagrán Vélez (2012). *Manual de Procedimientos Recomendables para la Investigación con Animales*. México: Samsara.

7. IDENTIFICACIÓN DEL DOLOR Y ANALGESIA

El dolor no puede expresarse de la misma forma en todas las especies; sin embargo, quien maneja animales debe preocuparse por su bienestar e identificar signos de alarma que pueden sugerir la necesidad de eutanasia, tales como cambios en su comportamiento o apariencia desaliñada; si se observa deterioro del animal, si se detectan alteraciones metabólicas o sistémicas a consecuencia de la práctica o experimento, si presentan algún daño severo, si están enfermos, si como resultado del experimento se les induce dolor agudo, es necesario ultimarlos de una forma ética. En el cuadro 2 se citan ejemplos de comportamientos que indican dolor en el modelo animal.

CUADRO 2. Comportamientos que indican dolor en el animal

Especie	Comportamiento	Apariencia	Fisiología
Rata (<i>Rattus sp.</i>)	Actividad reducida; baja ingesta de agua y alimento, lamido; automutilación; agresión y vocalizaciones anormales; rechazo a otros animales; si se palpa la zona afectada tiende a morder.	Pilo erección; postura anormal, encorvamiento; humedad roja en los lagrimales; córneas opacas, pupilas dilatadas; escurrimiento nasal.	Sueño interrumpido; hipotermia; respiración rígida y superficial; sonidos anormales al exhalar.
Ratón (<i>Mus sp.</i>)	Igual que la rata pero en ellos habrá un incremento en el movimiento de las vibrizas (bigotes).	Igual que la rata pero la humedad roja alrededor de los ojos sugerirá otra alteración.	Igual que la rata.

Continúa cuadro 2

<i>Especie</i>	<i>Comportamiento</i>	<i>Apariencia</i>	<i>Fisiología</i>
Conejo (<i>Oryctolagus cuniculus</i>)	Ansioso; huidizo; emite vocalizaciones; agresivo con rasguños y mordidas; dejan de comer; permanecen inmóviles; en ocasiones matan a sus crías.	Puede no haber cambios.	Salivación; respiración más rápida de lo normal y superficial.

Nota: recuperado de J. A. Navarro Hernández, R. A. Ramírez Ojeda y C. Villagrán Vélez (2012). *Manual de Procedimientos Recomendables para la Investigación con Animales*. México: Samsara.

Existen muchos tratamientos para reducir el dolor en los animales; sin embargo, en cada especie los medicamentos actúan de diferente manera, así que la administración de analgésicos deberá hacerse de acuerdo con la especie animal que se maneja así como con los fines experimentales o de docencia. Conforme con la normatividad, todos los estudios que pueden causar dolor intenso y estrés deberán estar autorizados y respaldados por un Comité Interno para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (CICUAL).

En los estudios en los cuales se infrinja un daño o dolor excesivo en el espécimen y que conlleve a un punto final del experimento, el investigador o docente debe presentar una justificación sólida sobre los beneficios que se obtendrán, el número de animales a emplear claramente definido y justificado por medio de un adecuado método estadístico, así como precisar explícitamente las razones por las cuales el experimento no puede ser modificado para aplicar un punto final anticipado al sufrimiento.

El animal que se defina como moribundo, es decir, en el que se detecte un estado de debilidad severo que precede inminentemente a la muerte, debe ser separado de inmediato de la colonia y se le debe aplicar eutanasia por cualquier método aceptado como humanitario. Un animal moribundo puede desarrollar los signos siguientes:

- a) Escasa movilidad, dificultad para mantenerse erguido, atrofia muscular, signos letárgicos, falta de actividad física, sin respuesta a estímulos externos.
- b) Postura encorvada por más de 48 horas, con respiración dificultosa, cianosis o ambas.
- c) Deshidratación, disminución en la ingestión de alimento (más de 48 horas), adelgazamiento.
- d) Diarrea crónica o constipación por más de 48 horas.
- e) Hemorragia por cualquier orificio.

Gracias a investigadores como Jeffrey Mogil (2012) y Matthew Leach (2014), se internacionalizó la identificación del dolor por medio de las expresiones faciales en animales, denominando a la *Escala Grimace* (sollozo) como un parámetro para detectar el grado de dolor principalmente en roedores (imagen 14) y en conejos (imagen 15), basándose en diversos indicadores:

- a) Ojos: el contorno del ojo está parcial o totalmente cerrado; los globos oculares se notan hundidos; si el párpado está cerrado más de la mitad se considera un dolor intenso.
- b) Mejillas: hay contracción de las mejillas hacia adentro, como si estuvieran presionadas haciendo que la cara se note más afilada.
- c) Nariz: comúnmente está puntiaguda como si fuera una “U”, si adquiere forma de “V” y se nota afilada hacia el mentón, es un dolor intenso.
- d) Bigotes: normalmente tienen una curvatura hacia abajo; si están rectas o inclinadas hacia atrás sobre las mejillas indican dolor.
- e) Orejas: se encuentran perpendiculares a la cabeza, con la parte interna hacia adelante o ligeramente a un lado. Cualquier curvatura diferente es indicativa de dolor.



IMAGEN 14. Escala de Grimace para ratas.

Nota: Reproducción con el permiso de Springer Nature: tomado de Langford et al., "Coding of facial expressions of pain in the laboratory mouse", *Nature Methods* 7 (6), 447-449, © 2010.



IMAGEN 15. Escala de Grimace para conejos.

Nota: Reproducción con el permiso de Springer Nature: tomado de Langford *et al.*, “Coding of facial expressions of pain in the laboratory mouse”, *Nature Methods* 7 (6), 447-449, © 2010.

8. ANALGESIA, ANESTESIA Y EUTANASIA

Cualquier procedimiento que cause mayor dolor o molestia en los animales más allá de la producida por inyección o marcaje en orejas, requerirá el uso de tranquilizantes, analgésicos o anestésicos. La dosis del fármaco recomendada debe ser previamente determinada dependiendo del protocolo del experimento, especificando la ruta de administración ya que pueden variar según la especie (cuadro 3).

CUADRO 3. Vías de administración de sustancias (P = Permitido; NP = No permitido)

Especie	Corazón (previa anestesia/sedación obli- gatoria/eutanasia posterior)	Seno orbital	Vena auricular	Vena caudal
Rata	P	P	NP	P
Ratón	P	P	NP	P
Conejo	P	NP	P	NP

Nota: recuperado de la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones Técnicas para la Producción, Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio. México: *Diario Oficial de la Federación*.

FÁRMACOS RECOMENDADOS Y DOSIFICACIÓN

En el cuadro 4 se enlistan algunas recomendaciones para la sedación, analgesia y anestesia de los animales de laboratorio de acuerdo con las especies que se crían. Los pre anestésicos (tranquilizantes y analgésicos) se emplean para reducir la ansiedad y reducir o eliminar la etapa de excitación característica de la anestesia producida por anestésicos volátiles, como el éter (aunque su uso prácticamente se ha eliminado). Los tranquilizantes reducen la aprensión del animal, lo cual facilita

su inmovilización para poder aplicarle la la inyección intravenosa. Los narcóticos y los tranquilizantes que se administran como pre anestésicos también reducen la cantidad general de la dosis de anestesia que se requiere. Estas medidas deben emplearse a menos que su uso interfiera con los objetivos de la experimentación, en cuyo caso es respaldado por el CICAL.

En México, las sustancias que están prohibidas para su uso en animales son:

- Droperidol
- Cloroformo
- Dietiléter

En la actualidad, se prefiere el uso de anestésicos administrados por la vía parenteral, es decir, atravesando una o varias capas de piel o membranas mucosas utilizando una inyección. Por ejemplo, la combinación de ketamina con xilacina, aunque su adquisición requiere de receta del médico veterinario certificado por la instancia de gobierno correspondiente.

CUADRO 4. Pre anestésicos y anestésicos recomendados de acuerdo con la especie

Especie	Fármaco/Dosis	Duración	Vía
Ratón	a) Xilazina(1016mg/kg)+Ketamina (80-200mg/kg	Cirugía mayor	IP
	b) Ketamina(44mg/kg)+Atropina (0.04mg/kg)	15-30 minutos	IM
	c) Ketamina(22-44mg/kg)+acetilpromacina (0.75mg/	20-40 minutos	IM
	kg)+Xilacina(2.5mg/kg)		
	d) Halotano (2-4% inducción), (1-2%) mantenimiento		Inhalado
Rata	e) Isoflurano (3-5%), (2.5-4.5%) inducción,		Inhalado
	(1.2-3.5%) mantenimiento		
	a) Xilazina (2.5mg/kg) dosis única+acetil promacina		M,IP
	0.75mg/kg)+Ketamina(22-44 mg/kg)		
Rata	b) Ketamina (62.5mg/kg)+valium(5mg/kg)		IP
	c) Ketamina (70mg/kg)+Xilacina (8mg/kg)		IM
	d) Tiletamina-zolazepan (20-30mg/kg)		IM

Continúa cuadro 4

Especie	Fármaco/Dosis	Duración	Vía
Rata	e) Halotano (2-4% inducción), (1-2%) mantenimiento		Inhalado
	f) Isoflurano (3-5%), (2.5-4.5%) inducción, (1.2-3.5%) mantenimiento		Inhalado
Conejo	a) Xilazina(5mg/kg) + Ketamina(35mg/kg)	30-60 minutos	IM
	b) Xilazina(3-7mg/kg) dosis única + Ketamina(50mg/kg) y Acetilpromazina(16 mg/kg)	20-75 minutos	IV,IM,IP
	c) Cirugía menor		
	c) Propofol (7.5-15mg/kg)	30-45 minutos	IV
	d) Halotano (0.5-4%)	20-40 minutos	Inhalado
	e) Isoflurano (1.5-5%) inducción, (1.5-3%) mantenimiento		Inhalado

Nota: recuperado de B. Pérez, E. Soriano, O. Villanueva, F. Villegas, R. Hernández y A. Carmona. (2007). *Guía de los anestésicos más utilizados en animales de laboratorio*. México: INCMNRZ.

EUTANASIA EN CONEJOS, RATONES Y RATAS

La eutanasia se refiere a la muerte de un animal cuando se detecta un sufrimiento intenso, aplicando una técnica que sea rápida y sin dolor. Los términos han sido sancionados por la costumbre, aunque son incorrectos. Eutanasia significa muerte normal y sacrificio tiene un contexto incluso chamánico. La literatura científica moderna prefiere hablar de dosis letales, finar, ultimar al ejemplar, por ejemplo. Como quiera que sea, esta decisión se toma humanamente, además de estar vigilada por el CICUAL y por la legislación mexicana.

Los métodos que se muestran en la imagen 16 no están permitidos por producir sufrimiento alargado, convulsiones, asfixia y, en consecuencia, por no ser ni humanitarios ni compasivos. En cambio, en el cuadro 5 se señalan los métodos recomendados para ultimar a un animal de laboratorio. El más empleado es la inyección intraperitoneal de pentobarbital sódico, fármaco que en la actualidad

se ocupa principalmente para ello y escasamente como anestésico, dado su reducido margen terapéutico.

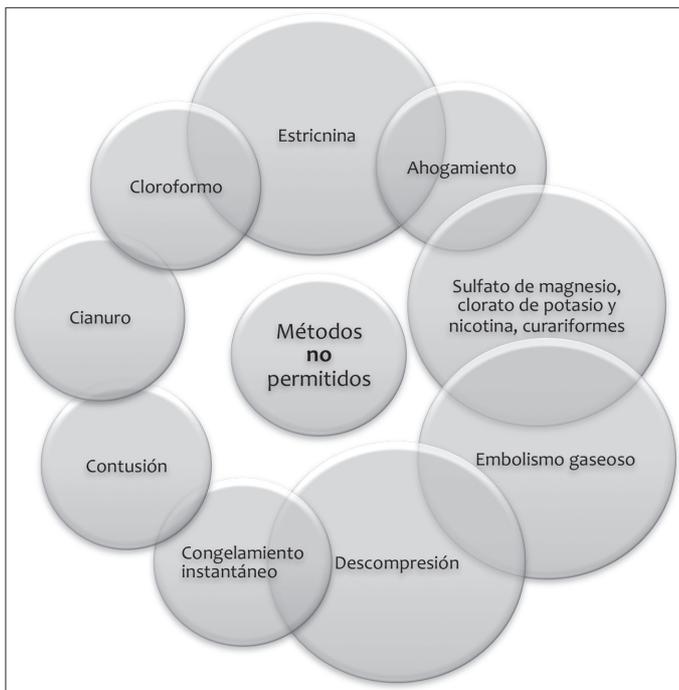


IMAGEN 16. Métodos de eutanasia prohibidos.

Nota: recuperado de la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones Técnicas para la Producción, Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio. México: *Diario Oficial de la Federación*.

CUADRO 5. Aplicación de los agentes y métodos de eutanasia por especie

Especie	Método permitido	Cantidad
Roedores y otros animales pequeños	Anestésicos inhalados, bióxido de carbono, argón, nitrógeno, irradiación con microondas, sobredosis de anestesia (se recomienda el pentobarbital únicamente para eutanasia).	Se administra una sobredosis de 3 veces el volumen utilizado para anestesia.

Continúa cuadro 5

Especie	Método permitido	Cantidad
Conejos	Anestésicos inhalados, bióxido de carbono, sobredosis de anestesia (se recomienda el pentobarbital únicamente para eutanasia).	Se administra una sobredosis de 3 veces el volumen utilizado en anestesia.

Nota: recuperado de la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones Técnicas para la Producción, Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio. México: *Diario Oficial de la Federación*.

Se considerará finalizada la vida del animal cuando se compruebe paro cardíaco y respiratorio, momento en el que el manejador colocará al cadáver en una bolsa amarilla indicada para residuos biológico-infecciosos de conformidad con la NOM-087-ECOL-SSA1-2002, que establece una clasificación para estos residuos peligrosos así como las especificaciones para su manejo.



IMAGEN 17. Bolsas indicadas para residuo biológico-infeccioso.

Nota: recuperado de la Norma Oficial Mexicana. nom-087-ecol-ssa1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo. México: *Diario Oficial de la Federación*.

9. MANEJO DE ANIMALES DE LABORATORIO

MANEJO Y SUJECIÓN DE RATONES Y RATAS

En el caso de roedores pequeños como crías o ratones, se saca al animal de la jaula sujetándolo suavemente por la base de la cola, y se coloca sobre una rejilla o sobre una superficie lisa (imagen 18a); en un solo movimiento se toma el cuero de la parte dorsal del cuello con el índice y el pulgar, sin apretar fuerte pero sí con firmeza, asegurándose de que no pueda girar la cabeza y morder (imagen 18b); por último, con la palma de la mano se sujeta el resto del cuero y con el dedo meñique se entrelaza la cola (imagen 18c).

En el caso de animales más grandes, se extrae al animal de la jaula tomándolo firmemente justo por debajo de sus brazos con los dedos pulgar e índice, asegurándose de que la cabeza quede entre ellos con las patas delanteras frente a la nariz del animal; con los otros dedos se asegura el resto del cuerpo y la cola (imagen 19).

Si se requirieran dos personas para algún procedimiento, uno lo sujeta de la manera antes descrita pero con la otra mano se aseguran las patas y la cola, mientras la otra persona administra el fármaco; esta técnica funciona para punciones intraperitoneales, por ejemplo. Cuando ya se tiene mucha práctica, se puede sujetar al animal con una sola mano evitando que la cabeza gire y así tomarla desde la caja. Las ratas no se sujetan de la mitad de la cola ni de la punta por ser doloroso y riesgoso para ambas partes; si es necesario manipular la cola, habrá que sujetarlas de la base de la cola con toda la mano, suave pero firmemente (imagen 20).

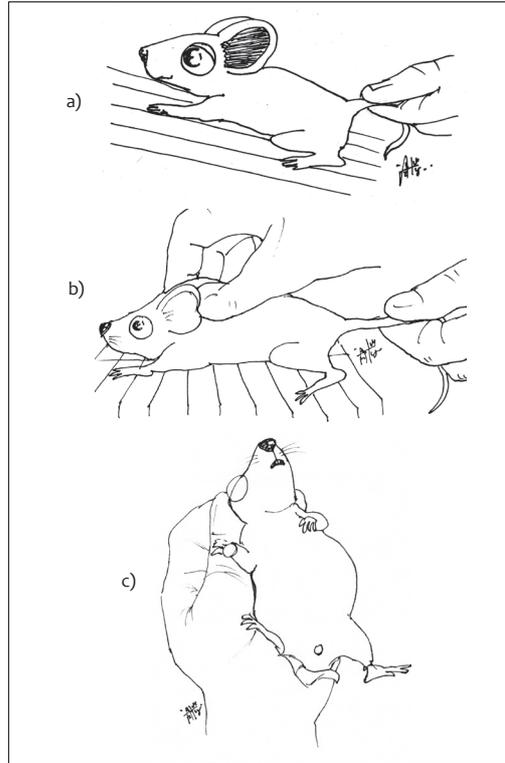


IMAGEN 18 (a, b, c). Sujeción de ratones y ratas pequeñas. a) control de movimiento, b) presionar suavemente el cuerpo sobre la superficie, c) tomar del dorso con el pulgar más 3 dedos y con el meñique, sujetar la cola.

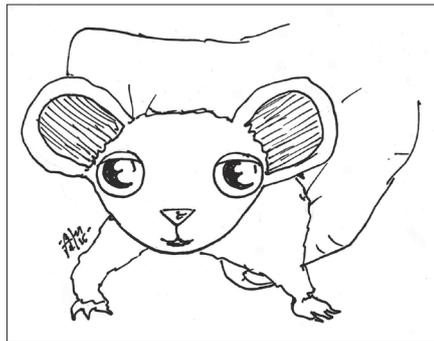


IMAGEN 19. Inmovilización con una mano por debajo de los brazos de la rata.

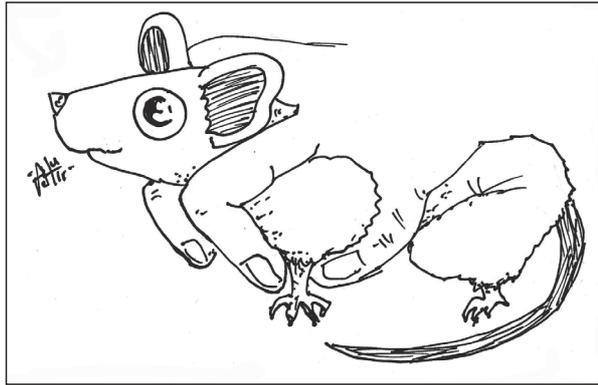


IMAGEN 20. Inmovilización con sujeción del cuello y extremidades.

Administración de compuestos y toma de muestra

La administración de sustancias y la extracción de sangre son procedimientos ampliamente utilizados para fines educativos y científicos. Una buena y exitosa práctica debe garantizar el cumplimiento del objetivo perseguido respecto a la sustancia inoculada. Tanto la sustancia como el medio en el que se disuelva (vehículo) deben ser apropiados para la vía elegida, las especies y el propósito del experimento. Cuando las sustancias son administradas en forma de soluciones, los disolventes mayormente utilizados son el suero fisiológico (solución salina al 0.9%) y el agua para inyección; para compuestos insolubles en agua, se puede emplear un disolvente orgánico que carezca de efectos farmacológicos, que sea estable, no tóxico, que no irrite y que no produzca sensibilidad; uno muy empleado es el aceite de maíz.

La viscosidad debe ser la adecuada para facilitar la inyección. La Sociedad Española para las Ciencias del Animal de Laboratorio proporciona en su documento *Laboratory Animals* (2001) una serie de preguntas clave que pueden sustentar y ayudar en la planificación de la administración de sustancias (cuadro 6). Una vez consideradas las respuestas, se puede afirmar que el desarrollo de una buena técnica disminuirá el dolor y el malestar, facilitará una pronta recuperación, evitará la ansiedad y dará resultados confiables sin necesidad de repetir las pruebas.

Es igual de importante considerar lo anterior para la toma de muestra de sangre, en cuyo caso es imprescindible, en primer lugar, calcular previamente la cantidad a extraer respecto a la volemia del animal y sustentar en el protocolo la parte del cuerpo de donde se extraerá la sangre (cuadro 7).

CUADRO 6. Lista de preguntas a contestar cuando se planifican los procedimientos

Objetivo experimental	¿Qué se está intentando conseguir científicamente? Con el régimen de administración elegido ¿se conseguirán los objetivos del experimento? Considere no solo si puede hacerse, sino también si debe hacerse y si hay un modo mejor de hacerlo.
La vía	¿Es la vía de administración adecuada para la sustancia? ¿Tiene la vía propuesta una alta tasa de severidad/gravedad? ¿Se conseguirán los mismos objetivos con una vía menos severa? ¿Es la vía adecuada para administraciones repetidas?
La sustancia	¿Está seguro de que sabe lo que les está administrando? ¿Tendrá la sustancia algún efecto adverso sobre el animal y existen datos sobre ello? Si los hay, ¿se han tomado las precauciones necesarias? ¿Puede la composición de la formulación alterar los efectos esperados? ¿Hay que preparar la sustancia en el momento? La concentración y el volumen de la dosis ¿alterarán los efectos esperados? ¿Hay que considerar alguna otra cosa teniendo en cuenta las propiedades físico-químicas de la sustancia o los solventes asociados, p.e. la osmolaridad? ¿Se puede reducir el volumen? ¿Se puede reducir la frecuencia de administración? Si la sustancia es tóxica, ¿se puede reducir la dosis? ¿Es probable que la sustancia sea irritante? ¿Es necesario realizar estudios preliminares, p.e., para averiguar la dosis tolerada y/o efectiva?
El animal	¿Hay problemas con alguno de los animales, la especie o la cepa? ¿Se estresa el animal fácilmente con el manejo? ¿Es el más adecuado para el estudio en estas condiciones? ¿Se le puede adiestrar para que coopere con el procedimiento? ¿Necesita tiempo para aclimatarse al procedimiento? ¿Es necesario administrarle un anestésico, sedante o analgésico? ¿Se reduciría el estrés o alteraría el experimento? ¿Ha hecho un estudio preliminar para averiguar los niveles de dosis efectiva y tolerada en la cepa utilizada?

Continúa cuadro 6

La técnica	¿Cuáles son los problemas científicos (p. e. metabolismo de primer paso en el hígado tras la administración oral o intraperitoneal, grado o tasa de absorción, efectos locales)? ¿Cuáles son los problemas técnicos (p. e. cuál es la manera correcta de sujetar un animal para permitir la inserción de la cánula con las menores molestias)? ¿Tendrá la técnica en sí algún efectos sobre el animal? ¿Están claramente definidos los límites de severidad/gravedad y el momento de punto final (end point)? ¿Qué refinamientos pueden introducirse para contrarrestar cualquier efecto adverso? ¿Es necesario un estudio preliminar? ¿Ha consultado las referencias y experiencias de otras organizaciones?
Personal	¿Posee el personal la autorización pertinente? ¿Es el personal competente en la técnica y está entrenado para tratar con cualquier efecto desfavorable? ¿Quiénes son los mejores miembros de la plantilla para realizar el procedimiento, considerando tanto el manejo de los animales como el procedimiento en sí? ¿Hay suficiente personal disponible para sujetar y administrar a los animales y para controlarlos tras la administración? ¿Conoce los límites de severidad/gravedad? ¿Se le ha delegado la autoridad y tienen suficiente destreza para sacrificar animales si se sobrepasan los límites de severidad/gravedad?

Nota: recuperado de SECAL. *Laboratory Animals* (2001) 35, 1-41.

CUADRO 7. Obtención de muestra de sangre (P = Permitido; NP = No permitido)

Especie	Vena auricular	Vena caudal	Vena cefálica	Vena femoral	Vena peneana	Vena safena	Vena sublingüal	Vena yugular
Rata	NP	P	NP	NP	P	P	P	P
Ratón	NP	P	NP	NP	NP	NP	NP	NP
Conejo	P	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP

Nota: recuperado de la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones Técnicas para la Producción, Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio. México: *Diario Oficial de la Federación*.

Una parte fundamental para la administración apropiada de sustancias es el tamaño de la aguja; es decir, adecuarlo para que se provoque el menor daño posible al animal de laboratorio, considerando que el calibre de la aguja depende de la resistencia de los tejidos que tiene que penetrar (cuadro 8). No se debe reutilizar una aguja ya que con cada inserción se pierde el filo de la punta y se provoca un mayor daño al tejido. Si las administraciones deben ser repetidas a intervalos cortos, se puede considerar la posibilidad de cateterizar la vena. Asimismo, hay que considerar la posición y la técnica de inyección, para lo cual es necesario conocer la anatomía del animal de laboratorio que se utilizará. La técnica para inyectar consiste en introducir la aguja/sonda firme pero suavemente; una vez que la aguja ha sido introducida, aspirar con el émbolo para asegurarse de que no se ha perforado un órgano o un vaso sanguíneo. En el segundo caso, solo se retira un poco la aguja y se reubica; este procedimiento es menos doloroso que sacar e inyectar de nuevo. De acuerdo con los parámetros de Wolfensohn y Lloyd (2003), el calibre de la aguja en roedores pequeños debe ser de 25 a 27G.

CUADRO 8. Tamaño de aguja para la administración de sustancias

	<i>Intradérmica</i>	<i>Subcutánea</i>	<i>Intramuscular</i>	<i>Intravenosa</i>	<i>Intraperitoneal</i>
Ratón	27G	25G	27G	26-28G	25-27G
Rata	27G	25G	25G	25-27G	23-25G
Cobayo	25G	23-25G	25G	25-27G	23-25G
Hámster	25G	25G	25G	25-27G	23-25G
Conejo	25G	21-25G	25G	23-25G	21-23G

Nota: adaptada de SECAL. *Laboratory Animals* (2001) 35, 1-41.

Administración de compuestos

Para administrar compuestos generalmente se utilizan las mismas técnicas en ratones que en ratas. La imagen 21 ejemplifica la administración de alguna sustancia directo al estómago por la vía esofágica, lo cual requiere de una cánula. Esta cánula primero se mide a lo largo del cuerpo del animal para determinar la distancia a la que será insertada y después se introduce lentamente por la garganta,

aprovechando el reflejo que tiene el animal de tragar, cuidando siempre de no perforar la tráquea. La cabeza de la rata debe inmovilizarse firmemente para evitar accidentes. Los contenidos se administran despacio en cantidades menores de 10 ml/kg. La administración eficiente llega a dominarse con la práctica.



IMAGEN 21. Uso de una cánula rígida.

Las inyecciones intramusculares

Generalmente se aplican con una jeringa de insulina y con una aguja calibre 27, insertada en la masa muscular de manera que se evadan las venas y nervios adyacentes al fémur. Una vez introducida la aguja, se jala el émbolo para asegurarse de que no se encuentre en la vena o en el torrente sanguíneo, y se administra el contenido. Antes de cualquier inoculación se debe pesar al ejemplar ya que una pequeña fluctuación puede ocasionar resultados indeseados; esta técnica se emplea cuando se busca acción general rápida, se requiere inyectar medicamentos a animales enfermos que no pueden deglutir o que no se les pueda aplicar vacunas. La inyección intramuscular suele ser dolorosa así que únicamente

deberá emplearse si no hay otro método accesible para ratas (imagen 22). Es necesario asegurarse previamente de que el animal esté adecuadamente inmovilizado para no causar lesiones en el tejido.

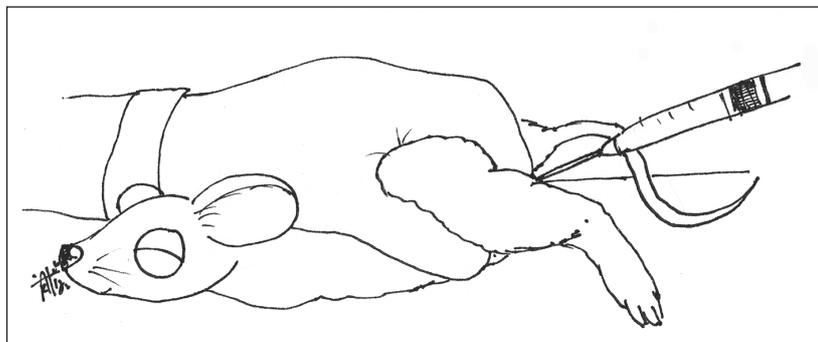


IMAGEN 22. Aplicación de una inyección intramuscular, rata.

La inyección intraperitoneal

Puede aplicarse para administrar volúmenes relativamente grandes de sustancias solubles, tales como anestésicos, y cuando la vía oral o la intravenosa no son las adecuadas. La técnica no es recomendada para animales mayores que los roedores ni para hembras preñadas; las sustancias irritantes pueden poner en peligro la vida del animal si se administra por esta vía pues se producen muchas reacciones adversas como dolor, formación de tejido fibroso y adherencias. Previamente, se debe medir la profundidad de penetración de la aguja. Es importante que el animal se mantenga sujeto, en una posición horizontal inclinada en un ángulo de 30-40 °C, para que los intestinos se ubiquen fuera del área de punción (imagen 23). La aguja se inserta ligeramente a la izquierda de la línea media del ombligo, a medio camino de la sínfisis pubiana y el apéndice xifoides del esternón. Si se aspira una sustancia amarilla o verde, se debe retirar la aguja, cambiar la jeringa completa y redirigir la inserción de la aguja.



IMAGEN 23. Aplicación de una inyección intraperitoneal.

La inyección subcutánea

Se inyecta en el tejido adiposo que se encuentra por debajo de la piel. Es utilizada principalmente para anestésicos, vacunas u otras sustancias establecidas en el protocolo, siempre de acuerdo con el procedimiento establecido en el protocolo de investigación. Se debe inmovilizar al animal, seleccionar la parte de la administración (lomo o muslo), sujetar el cuero entre el índice y el pulgar y utilizar una jeringa de insulina probando siempre que el émbolo haga vacío y no extraiga sangre (imagen 24). En los ratones se sugiere una administración de 2-3 ml por vía subcutánea. Para aquellos manejadores inexpertos es útil mojar el cuero con una torunda con alcohol o agua para visualizar exactamente la zona de aplicación y asegurar que la sustancia sea introducida. No confundir con la inyección intradérmica que consiste en inyectar una sustancia dentro de la dermis, generalmente usada solo para pruebas de sensibilidad cutánea. La vía intradérmica no conviene para el ratón, ni está recomendada en otros roedores.

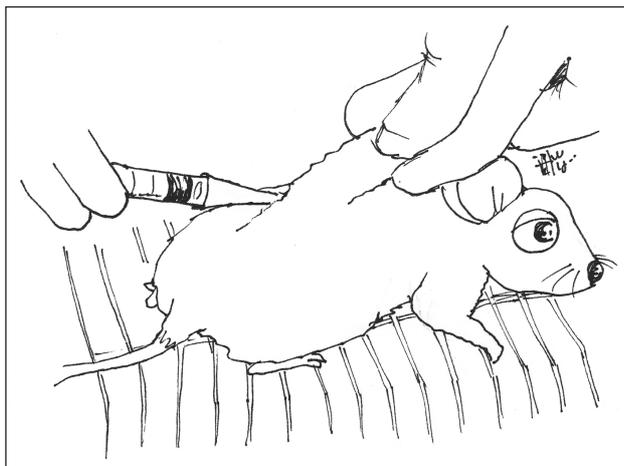


IMAGEN 24. Aplicación de una inyección subcutánea.

La vía intravenosa

Se utiliza en experimentos fármaco-toxicológicos para simular la vía de exposición a la formulación de drogas, soluciones nutritivas, agentes infecciosos o para realizar un diagnóstico. En el caso de aplicación de sustancias se debe considerar que la formulación no cause hemólisis o coagulación ni reacciones degenerativas o inflamatorias en las paredes de los vasos sanguíneos o en tejidos perivasculares circundantes. Una coloración blanquecina indicará que la aplicación fue exitosa; en cambio, la formación de una burbuja por debajo de la piel indica que la sustancia no penetró a la vena. Si la sustancia no está en solución cuando se inyecta en la vena de la cola, esta se tornará violácea debido a una trombosis; también puede producirse edema pulmonar y/o embolia. Las sustancias se deben inyectar lentamente durante varios segundos manteniendo al animal inmóvil. Para obtener una muestra de sangre, lo más recomendable es localizar la vena lateral de la cola del roedor, siempre utilizando un cepo de acuerdo con el tamaño del animal para inmovilizarlo y aplicando anestesia local, si no interfiere con el objetivo del protocolo (imagen 25). La vena lateral se puede observar fácilmente sumergiendo la cola en salicilato de metilo a 32-37 °C durante 5-10 minutos, o colocando una lámpara de mano hasta que se dilate. Se sujeta la cola y se inserta la aguja

superficialmente por debajo de la piel en paralelo a la vena; se inserta la aguja aproximadamente 3 mm dentro del lumen de la vena para aplicar la sustancia o para extraer la sangre. Se remueve la aguja y se aplica presión en el área para asegurar la homeostasis. El volumen máximo que está permitido en una inyección intravenosa es de 0.3 ml. Al extraer sangre hay que considerar que el volumen (en mililitros) es de aproximadamente 6% de su peso total en kilogramos, de manera que se recomienda que la extracción sea en intervalos semanales siempre dependiendo de la cantidad y la frecuencia con que se requiera sangre.

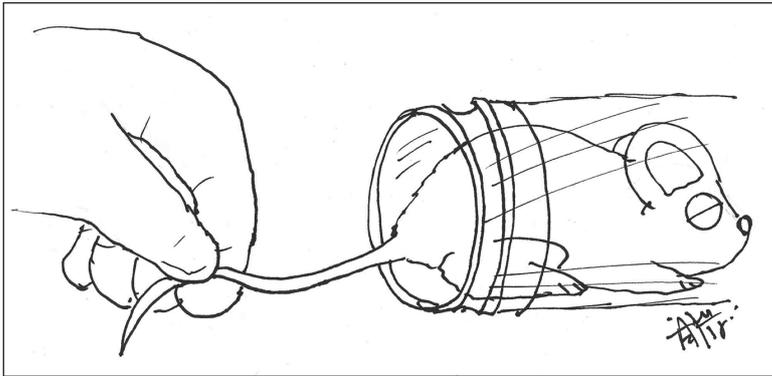


IMAGEN 25. Aplicación de una inyección intravenosa o extracción de sangre utilizando un cepo de restricción.

La punción intracardiaca

Es una técnica recomendada para obtener grandes volúmenes de sangre, previa anestesia general del animal (imagen 26). Es recomendable que sea un procedimiento terminal o previo a la eutanasia debido a complicaciones como el taponamiento cardíaco y la laceración de la víscera pleural, por mencionar algunas. Se introduce la jeringa de 15-20° guardando este mismo ángulo sobre la superficie del abdomen en dirección al corazón. Se aspira (o inyecta) suavemente.

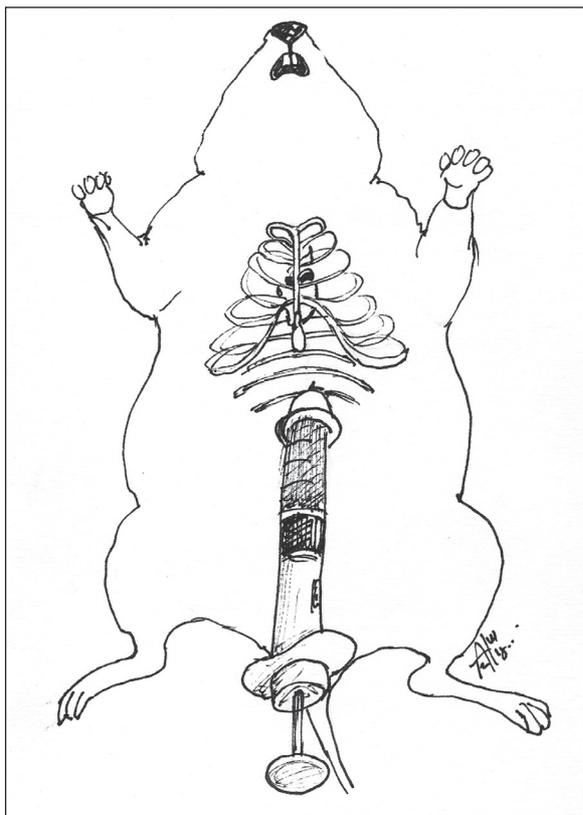


IMAGEN 26. Punción intracardiaca (únicamente con sacrificio posterior).

El sangrado retro-orbital

Se usa también para obtener grandes cantidades de sangre (imagen 27). Para este procedimiento es necesaria la pericia y la experiencia del manejador, uso de anestesia previa, colocar al ejemplar sobre una superficie plana presionando un poco el tórax para permitir el flujo de sangre hacia la cabeza. En este caso no se usan agujas por ningún motivo, la sangre se va a obtener con un tubo capilar o pipeta Pasteur que se usa para penetrar la conjuntiva del orbital al centro o a un lado del canto del ojo. Esta técnica debe estar aprobada por el CICUAL y, de preferencia, evitarse cuando no se tiene suficiente experiencia en el manejo de animales.

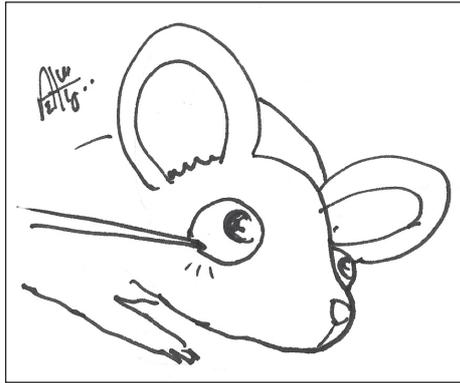


IMAGEN 27. Sangrado retro-orbital.

Punción facial o submandibular

Esta técnica consiste en sedar al animal para que al momento de la sujeción se restire la piel de la mandíbula y se pueda hacer la punción (imagen 28). El punto de partida para la punción facial se localiza en la mandíbula inferior cerca de su ángulo, insertando la lanceta en un solo movimiento; si se usa jeringa, se recomienda que la aguja se inserte solo 2-3 mm. La sangre brotará por la mejilla y se captura en tubos capilares o pipetas Pasteur, dependiendo de su finalidad. Al igual que la técnica anterior, se requiere de una justificación avalada por el CICUAL y pericia del manejador.

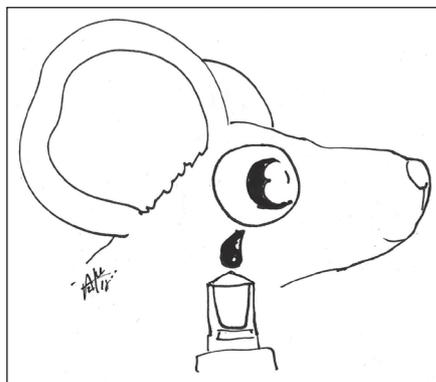


IMAGEN 28. Punción facial o submandibular.

Almohadilla plantar

En años anteriores se ocupaba para la producción de anticuerpos, ensayos de nódulos linfáticos, artritis por adyuvantes, exploración de analgésicos y para investigación en bacteriología. A la fecha se ha reconocido que esta vía tiene un alto índice de molestia y se recomienda no utilizarla a menos que sea la única técnica efectiva para lograr un objetivo determinado, como en el caso del *Mycobacterium leprae*.

MANEJO Y SUJECIÓN DE CONEJOS

Los conejos son muy susceptibles a la luxación o ruptura de la columna vertebral, lo que puede resultar en parálisis o muerte, de manera que un manejo y sujeción adecuados son fundamentales. Existen algunas reglas para sujetar a los conejos:

Primera: aplicar el manejo mínimo necesario, es decir, solo manipular al animal cuando verdaderamente se requiera.

Segunda: cuando sea necesario el manejo y la sujeción, esta última debe ser firme pero generosa, refiriéndose a que no se necesita aplicar demasiada fuerza (es importante estar consciente de la fuerza que se esté aplicando).

Tercera: nunca, bajo ninguna circunstancia, sujetar a un conejo por las orejas; además de ser antinatural, las orejas de estos animales son muy sensibles y tienen gran vascularización, lo que puede provocar la formación de hematomas, lesiones en la cabeza, el cuello o la columna vertebral.

Los conejos adultos de las razas pequeñas y medianas se toman con una mano por un pliegue de la piel del hombro, mientras que la otra lo sujeta por debajo de los muslos para soportar su peso (imagen 29a). También se pueden pegar al cuerpo del manejador para asegurar que la columna esté en su posición natural y que el animal esté firmemente sujetado (imagen 29b). En cualquier caso, la columna y las patas traseras deben estar firmemente inmovilizadas.

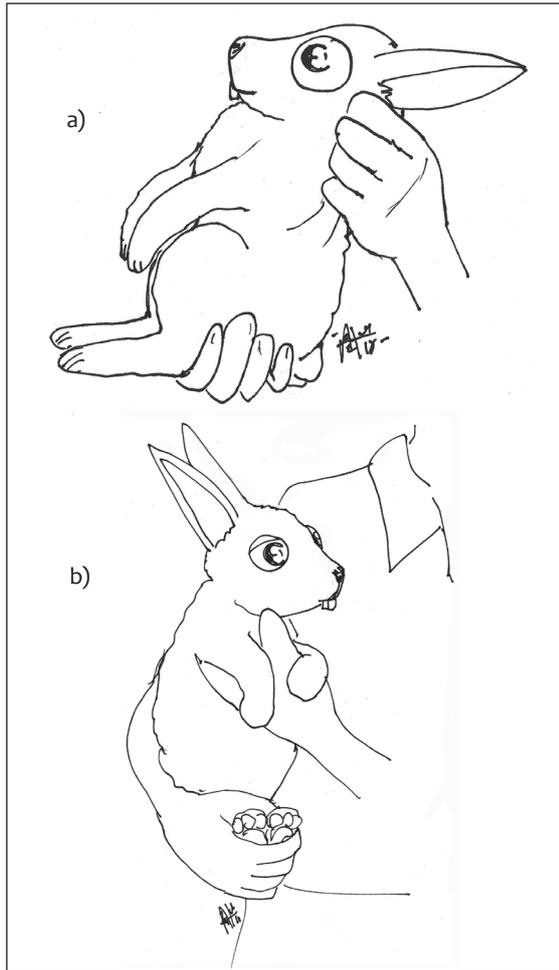


IMAGEN 29 (a y b). Manejo adecuado del conejo: a) sujeción con una mano asegurando desde la grupa; b) sujeción contra el cuerpo.

Los conejos con 4 kg de peso o más se sujetan con una mano por un pliegue de la piel del hombro, mientras la otra pasa sobre la espalda y el costado, sosteniéndolo por los muslos, de tal manera que quede prensado entre el brazo y el cuerpo del manejador (imagen 30). Los gazapos deben sujetarse con una mano por encima del lomo, colocando el pulgar y el índice por la parte superior de la grupa (imagen 31).

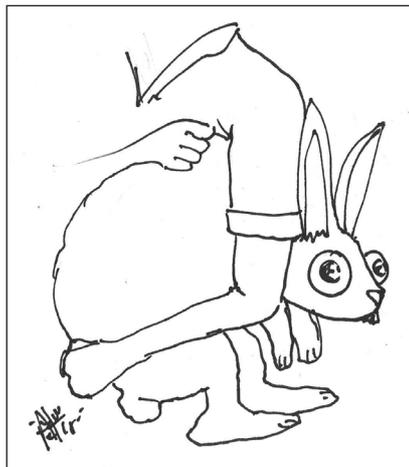


IMAGEN 30. Manejo de conejos de más de 4 kilos.

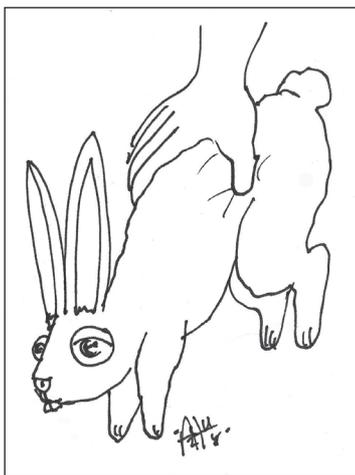


IMAGEN 31. Manejo de gazapos.

Finalmente, los conejos con heridas, recién intervenidos quirúrgicamente o bajo tratamientos especiales, pueden sujetarse con una mano por la piel del cuello, y sostenerse por el lomo y la grupa con el brazo, de modo que el conejo quede bocarriba sin olvidar que las patas traseras son muy fuertes, así que habrá que sujetarlas también (imagen 32).

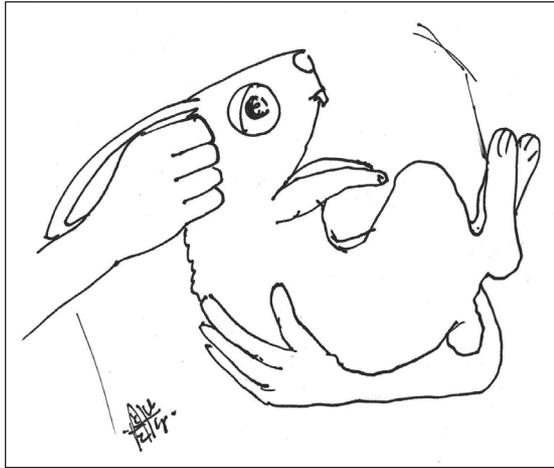


IMAGEN 32. Manejo de conejos heridos.

Algunos conejos son más agresivos que otros. En este caso, para sujetarlos se puede usar un paño, cubrir su cuerpo y sus ojos de forma envolvente hasta colocarlo sobre la superficie donde será tratado (imagen 33); si es necesario, se puede mantener el paño para inmovilizarlo durante el procedimiento, siempre y cuando no obstaculice su respiración. El manejo inadecuado de los conejos puede terminar en forcejeos y rasguños al manejador, caídas violentas del animal contra el suelo, desgarres, luxaciones de columna, parálisis o muerte.

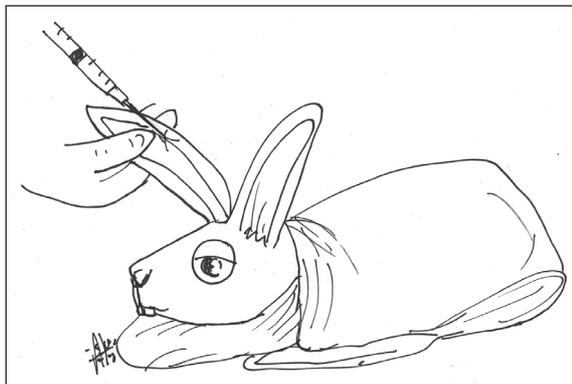


IMAGEN 33. Manejo de conejos sujetados con un paño.

Aplicación de sustancias y toma de muestra

Para aplicar cualquier sustancia es primordial sujetar firme pero suavemente al conejo, sin estresarlo para que se sienta relativamente relajado y la administración u obtención de muestra sea lo más rápido posible. Existen algunos aditamentos para sujetar el cuerpo de los conejos, pero su uso depende del procedimiento especificado en el protocolo. Se pueden utilizar también cepos de restricción si el área de trabajo se localiza en la cabeza (imagen 34). De acuerdo con los parámetros de Wolfensohn y Lloyd (2003) el calibre de la aguja en conejos debe ser de 23 a 25G, dependiendo el área a inyectar.

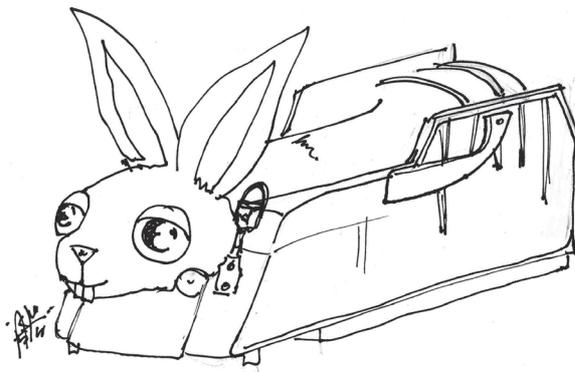


IMAGEN 34. Manejo de conejo sujetado en un cepo de restricción.

Toma de muestra de sangre de la oreja

Para obtenerla se utilizan viales con anticoagulante como EDTA, heparina, citrato u oxalato de potasio, considerando el tipo de experimento que se vaya a realizar. Generalmente se obtiene de la oreja y, dependiendo del volumen deseado, será la vena o la arteria la que se ocupe. Para grandes volúmenes de sangre se utiliza la arteria central lo más cercano posible a la punta de la oreja; para cantidades pequeñas se usará la vena marginal lo más cercano posible a la base de la oreja. En ambos casos se utiliza una aguja hipodérmica, previo aseo del área, sujetando siempre la cabeza y el cuerpo del animal (imagen 35).

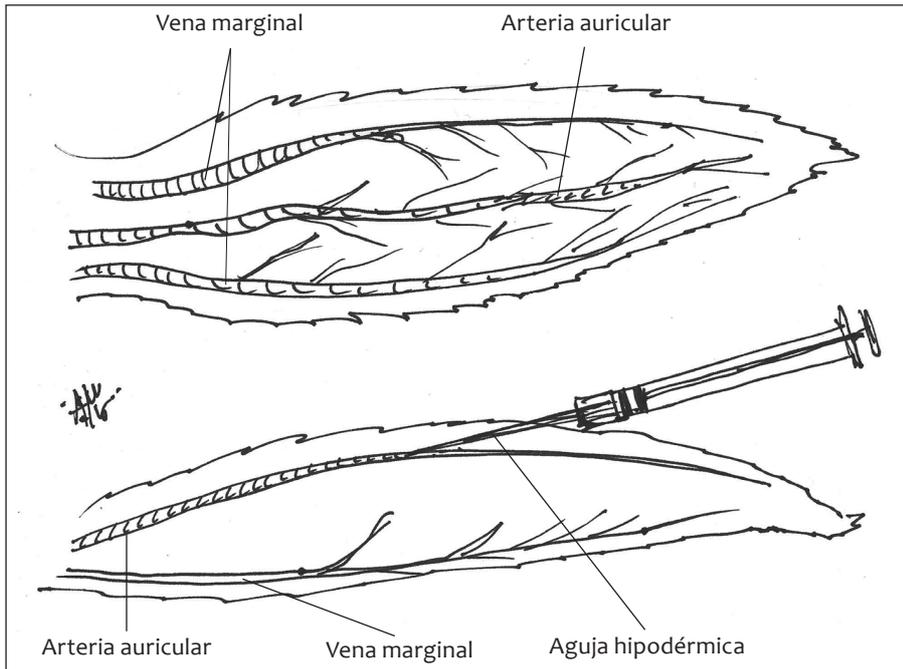


IMAGEN 35. Vasos sanguíneos relevantes en la oreja del conejo.

Toma de muestra de sangre de la vena yugular

Tomar esta muestra requiere de mucha experiencia ya que la vena no se aprecia a simple vista. En este caso el conejo se recuesta en su dorso y se deja extendido el cuello para una palpación adecuada.

La punción cardíaca

Se utiliza para volúmenes grandes de sangre únicamente cuando después del muestreo se le efectúe eutanasia (imagen 36). El conejo debe ser anestesiado, colocado sobre su dorso, localizar el corazón (generalmente la punta del ventrículo izquierdo) y realizar la punción firmemente y en un solo intento; también se puede ubicar al conejo sobre su lado derecho para insertar la aguja entre las costillas y el punto donde se siente con mayor claridad el latido del corazón.

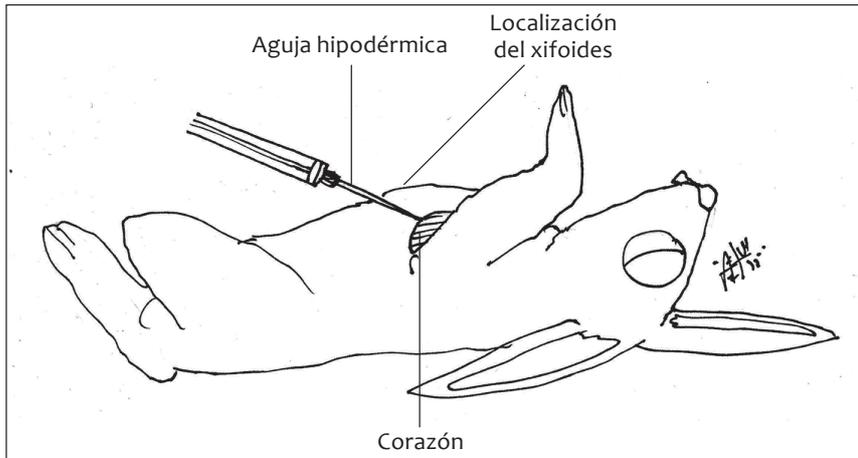


IMAGEN 36. Punción cardíaca en conejo (únicamente con eutanasia posterior).

Recolección de orina

El método para recolección de orina varía dependiendo del uso final de la muestra. Si no es importante un poco de contaminación bacteriana se puede obtener colocando una charola de acero inoxidable por debajo de la rejilla inferior de su jaula, y esperar a que orine para vaciarla en un contenedor estéril. Si se requiere una muestra directa, se acuesta al conejo para inmovilizarlo y con el pulgar de la mano derecha se presiona levemente y con suavidad el abdomen del conejo. Esta presión comienza desde la altura del estómago y termina debajo de la vejiga, región en la que se hace mayor presión, en forma de masaje vertical. El conejo orinará cuando se relajen los músculos así que el masaje puede hacerse intermitentemente. Si se requiere orina estéril lo ideal es la recolección por cistocentesis, es decir, una punción a la vejiga (imagen 37). Para realizar la obtención bajo esta técnica, se aplica un sedante o una anestesia ligera, se inmoviliza bocarriba al conejo, y se palpa el abdomen; una vejiga llena es fácilmente detectada. Se traspasa la pared abdominal con una jeringa estéril hasta llegar a la vejiga para recoger la muestra de orina. También se pueden utilizar catéteres pero por ser molestos, invasivos y complejos; se utilizan solamente en la clínica. Al igual que con roedores, hay jaulas metabólicas para conejos que dan resultados confiables.

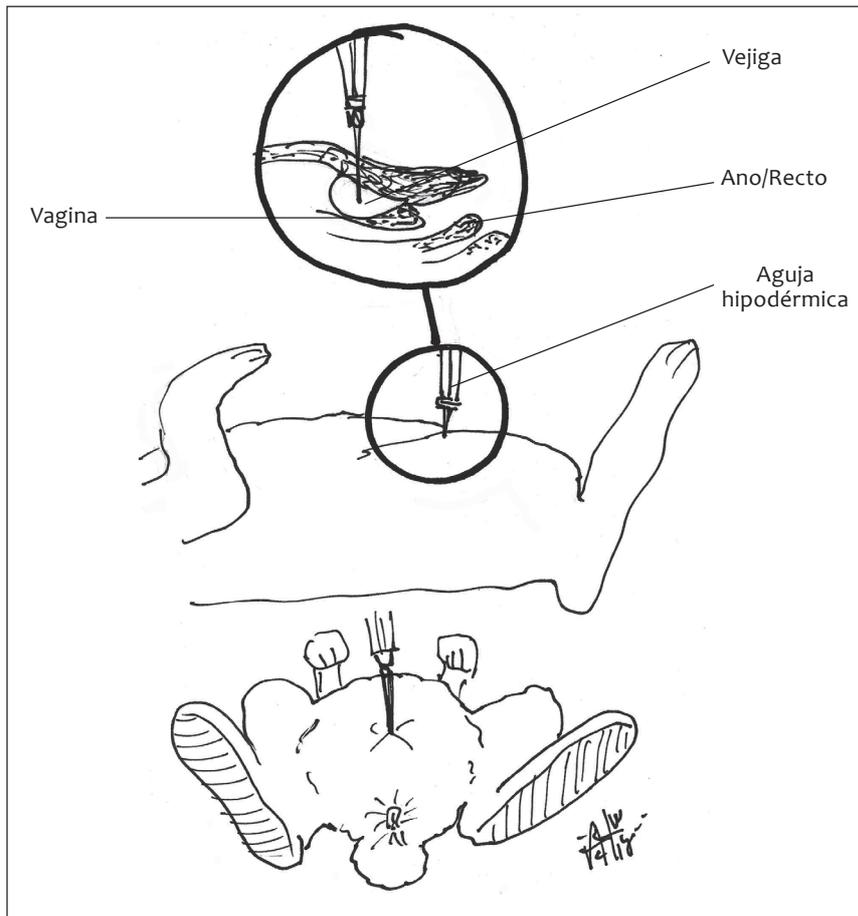


IMAGEN 37. Posición de la aguja hipodérmica desde un punto de vista caudal en una punción de vejiga.

Aplicación de la inyección intramuscular

Se lleva a cabo localizando los músculos largos del glúteo en la parte media de la pierna del conejo, o bien puede ubicarse la musculatura perilumbar en la parte trasera. Se usa una jeringa de insulina preferentemente. Se sujeta con firmeza al conejo presionando ligeramente la grupa sobre una superficie plana y sujetando los brazos por delante; se toma la pierna y se localiza la masa muscular estirándola

con suavidad; se realiza el procedimiento de asepsia y se inserta la aguja jalando ligeramente el émbolo para asegurar la ausencia de sangre (imagen 38).

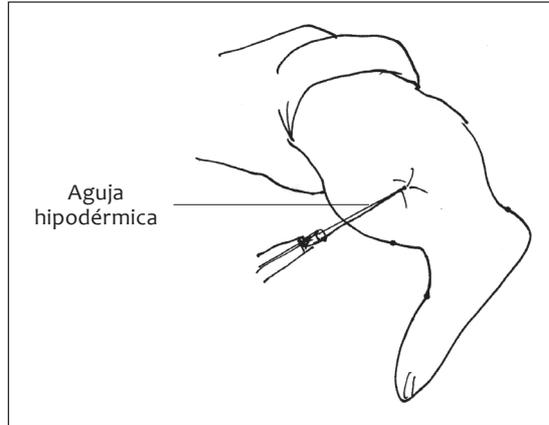


IMAGEN 38. Aplicación de una inyección intramuscular.

Aplicación de la inyección subcutánea

Se aplican en el dorso, entre el cuello y la nuca, previa asepsia y sujeción del cuero a donde se va a aplicar, utilizando una jeringa de insulina (imagen 39).

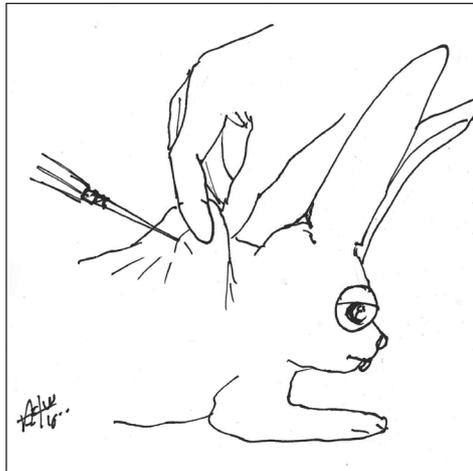


IMAGEN 39. Aplicación de una inyección subcutánea.

Aplicación de la inyección intraperitoneal

Solo algunos compuestos específicos se aplican por esta vía, pero debido al riesgo accidental de una punción en algún otro órgano, no es recomendable realizarla más que en roedores pequeños, considerando inclusive la eutanasia. Se localiza el cuadrante en la parte baja (caudal) derecha de la superficie abdominal. Generalmente se usa una jeringa de 3 mm. El conejo debe estar preferentemente sedado, inclinado en perpendicular sobre su dorso, para dejar libre el cuadrante inferior. Es muy importante jalar del émbolo para asegurarse de que ninguna sustancia sea absorbida; de lo contrario, se habrá puncionado un órgano y se tendrá que realizar otra punción con otra jeringa y sacrificar al animal.

Aplicación de la inyección intradérmica

Es usualmente utilizada para inmunizaciones con agentes específicos; sin embargo, hay que justificarla muy bien con una persona experimentada porque es causa de frecuentes ulceraciones e infecciones en el sitio de inyección. El uso de la vía intradérmica puede justificarse solo cuando el propósito es inducir una respuesta inmunitaria de origen celular. En conejos, no se deben inyectar más de 0.05 ml (50 microlitros) por sitio de inyección. La formación de una ampolla en la zona de la punción indica que se logró una aplicación efectiva.

Administración oral de sustancias

Son múltiples los métodos para este tipo de administración de sustancias, que van desde la dilución en agua, la administración con una jeringa de insulina sin aguja, las cápsulas o por medio de tubos gástricos. En esta última técnica el conejo debe estar sedado para que el tubo gástrico sea insertado de acuerdo con la longitud que va desde la boca hasta la última costilla y se pueda administrar la solución. Es recomendable que se realice por personal experimentado ya que el sistema digestivo de los conejos es delicado.

Administración tópica-ocular de sustancias

Se ha utilizado en los ojos para valorar los potenciales efectos irritantes de algunas sustancias. El conejo se usa universalmente para estudios de irritación ocular, aunque cada vez son menos aceptadas estas pruebas ya que pueden producir gran ansiedad así que se debe vigilar constantemente a los animales por si aparecieran efectos adversos a lo largo del procedimiento, en cuyo caso puede llegarse a la eutanasia. No deben aplicarse sustancias corrosivas como las que tienen alto potencial de oxidación, detergentes, sustancias irritantes para la piel, insolubles, ásperas o duras. Este procedimiento deberá estar respaldado por el CICUAL, considerando el objetivo final.

10. BIENESTAR ANIMAL

El ser humano siempre se ha asumido a sí mismo como el organismo dominante sobre el resto de los seres vivos del planeta. Parece que esta aseveración tiene tres fundamentos principales: uno que data de la prehistoria, en donde los animales eran necesarios para alimentarse; otro, desde el momento en que de acuerdo con el concepto bíblico (Génesis 1: 20-28), Adán adquiere el dominio sobre los peces del mar, las aves de los cielos, las bestias y todo animal que se arrastra sobre la tierra; y tercero, desde la concepción de que un animal es un ser irracional, sin lenguaje ni conciencia.

Algunas sociedades sí reconocieron la equivalencia moral de animales y humanos, como los budistas e hinduistas, quienes proclamaron la necesidad de proteger a los animales castigando duramente a quienes mataban a una vaca o a un perro; Mahoma decretó la necesidad de matar a los animales únicamente por necesidad y sin crueldad.

En 1641, uno de los primeros intentos en el Continente Americano para reconocer a los animales como seres vivos con derechos fue la aprobación de las leyes de Massachusetts que dictaminan que “a ningún humano le es permitido efectuar algún tipo de tiranía o crueldad hacia alguna criatura nacida que esté normalmente retenida para uso humano”. En 1964, en el Reino Unido se crea el Farm Animal Welfare Advisory Committee (Comisión Consultiva sobre el Bienestar de los Animales de Granja) en la que se establecía la libertad de movimiento de los animales. Actualmente, en este documento se reconocen como las Cinco Libertades del bienestar animal las siguientes:

1. *Estar libres de hambre y sed:* es decir, que tengan acceso constante a agua potable, fresca y a una dieta saludable.

2. *Estar libres de incomodidad*: que su entorno se asemeje a su hábitat natural, que sea cómodo y confortable.
3. *Estar libres de dolor, lesiones y enfermedades*: que el humano sea responsable de prevenir y diagnosticar alteraciones para proporcionarle el tratamiento necesario.
4. *La libertad de expresar un comportamiento normal*: esto se logra por medio de espacio suficiente, instalaciones adecuadas al tamaño y la interacción entre animales de la propia especie.
5. *Estar libres de miedo y angustia*: evitarles el sufrimiento físico y mental.

La definición de bienestar animal mejor aplicada en la actualidad es la de Broom & Johnson (1993) quienes establecen que es el estado en el cual se encuentra un animal que trata de adaptarse a su ambiente, generalmente impuesto por el ser humano. Es importante reducir el estrés del animal y mejorar su bienestar social, así como observar un comportamiento natural.

Para asegurar el bienestar animal es necesario tener en cuenta:

1. Las necesidades para mantener la vida: deben cumplirse para asegurar la supervivencia.
2. Las necesidades para mantener la salud: prevención de enfermedades y heridas.
3. Las necesidades para mantener la comodidad: fortalecen la calidad de vida.

Es importante considerar, dentro de este rubro, que la mayoría de los animales de experimentación son sociables pues se benefician de la compañía de otros compañeros, considerando que cualquier experiencia que tenga un animal durante sus fases de desarrollo determinará su comportamiento social cuando sea adulto.

El principio de las 3R (Reducir, Reemplazar y Refinar), ya mencionado, fue propuesto por William Moy Stratton Russell y Rex Leonard Burch en 1959 en su obra *The principle of humane experimental technique* y ha tenido un gran impacto desde el siglo pasado, considerándose el punto de partida para desarrollar leyes

y normas que aseguren que solo se emplean animales cuando no se encuentra un elemento sustitutivo.

El compromiso va más allá de estos principios, pues se trata de ofrecer a esos animales un ambiente con la menor tensión posible y que la manipulación de los animales en los laboratorios o en las prácticas escolares se lleve a cabo bajo la supervisión de un experto con el entrenamiento apropiado.

La utilización de animales, como modelos de experimentación en investigación, tiene además implicaciones de orden ético, moral y legal que deben considerarse al momento de diseñar el experimento o la práctica; de lo contrario, se estará incurriendo en un incumplimiento internacional, comprometiendo la integridad del trabajo o de la institución y obviamente pone en duda la ética de quien la transgrede.

La cantidad de animales que se utilizarán en un experimento se define específicamente por medio del diseño experimental, utilizando los métodos estadísticos para la obtención del número de muestra. Un buen diseño experimental posibilita la reducción del número de animales necesarios para conseguir los objetivos siempre y cuando se sigan los principios de ética de la experimentación animal:

1. No se utilizarán animales si puede recurrirse a otro medio científicamente satisfactorio.
2. Recurrir al menor número de animales estadísticamente obtenido.
3. Utilizar los procedimientos que causen menos dolor y sufrimiento.
4. Aplicar las condiciones idóneas de anestesia y analgesia en cada procedimiento de acuerdo con la NOM-062-ZOO-1999.
5. Si el animal sufre alguna mutilación (que no sea en su beneficio) ha de ser eutanizado.
6. Se emplearán métodos eutanásicos humanitarios y recomendados en la NOM-062-ZOO-1999.
7. No se mantendrá con vida a un animal si sufre dolor o angustia.
8. No está permitido utilizar a un animal en más de un proyecto de investigación o práctica.

9. Queda prohibido experimentar o practicar con especies vagabundas, domésticas o de locales comerciales que no ofrezcan un certificado de salud del animal.
10. El experimentador es moralmente responsable de sus actos en el marco de la experimentación animal.

En el caso de los animales de laboratorio criados en los bioterios con fines educativos, el Reglamento de Bienestar y Protección a los Animales para el Municipio de Xalapa, Ver. establece en su Artículo 63 que “En instituciones de educación profesional deberán preferirse los métodos alternativos de experimentación y enseñanza, quedando prohibido todo acto de crueldad o estrés al animal, pese a cualquier justificación de avance científico”. En el Artículo 64 nuevamente se hace énfasis en que todo experimento con animales debe apearse a las normas oficiales mexicanas sobre la materia, siempre y cuando estén plenamente justificados ante el comité de bioética de la institución, considerando que los experimentos no puedan ser sustituidos por esquemas, dibujos, películas, fotografías, videocintas o cualquier otro procedimiento análogo.

Hoy en día las universidades están optando por adquirir simuladores virtuales que apoyan no solo el aprendizaje de la anatomía humana, sino también ayudan en la adquisición de destrezas y competencias establecidas en los programas de estudio. De esta manera, hay compañías que se dedican a crear los simuladores considerando las patologías o necesidades humanas. Solo por citar algunos están aquellos que refieren un parto, desde los que solo incluyen la parte inferior de la mujer hasta el simulador completo automatizado con software para programar distintas situaciones durante un parto real. Hay simuladores geriátricos, de laparoscopia, neonatal, de circuncisión, de cesárea, de sonda Foley, brazo para inyecciones, simulador para intubación traqueal, de intestino de doble capa, de herida, y diversos modelos solo para la enseñanza de la anatomía. Idealmente se trabajaría con cadáveres humanos preservados bajo la técnica en fenol o plastinados, pero los simuladores del tamaño real de una persona, con software inte-

grado que pueda programarse para diferentes actividades educativas, son un importante impulso para la educación médica, por ejemplo.

Otra técnica de simulación para sustituir las prácticas universitarias con animales es preparar piezas de animales muertos semejantes al humano, tales como piernas, patas y cualquier parte de cerdo, cueros de distintos grosores para suturas, muslo y pierna de pollo, hasta los huesos de grandes equinos o cabezas completas. En este caso se apela a la creatividad del docente y a su conocimiento en técnicas didácticas que puedan adaptarse a los planes de estudio y a los objetivos a perseguir.

La responsabilidad que el investigador o el docente tienen frente a sus estudiantes es fundamental porque son el ejemplo a seguir. Los principios y la ética con los que se desenvuelvan sentarán los precedentes para los futuros profesionistas, fortaleciendo el eje humanista-axiológico del estudiante.

11. CICUAL

El cuidado, su aprovechamiento y el trato humanitario hacia los animales deben ser parte de la elaboración de un protocolo de investigación científica, pruebas de laboratorio o como parte de un proceso educativo que responde a una aplicación profesional y científica basada en el conocimiento de las necesidades de los animales y de los requerimientos de acuerdo con el bienestar animal.

Cada institución debe establecer y suministrar los recursos para llevar a cabo un programa de cuidado y uso de los animales, respaldado por la legislación mexicana. Para verificar lo anterior, cada institución que utilice animales de laboratorio debe contar con un Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio, mejor conocido como CICUAL, formado por personas que trabajen o que se interesen por el bienestar de los animales de laboratorio, que sean analistas y objetivas, dentro de un equipo multidisciplinario que se encarga de abordar metódica y sistemáticamente los proyectos, protocolos o proyectos educativos en donde se ocuparán animales de laboratorio, para formular directrices, políticas y recomendaciones que favorezcan el trabajo de una forma responsable.

El CICUAL se caracteriza por ser un grupo multidisciplinario, pero siempre debe contar con un médico veterinario zootecnista, un investigador que trabaje con animales de laboratorio, un miembro de la sociedad que represente los intereses de la comunidad pero sin relación con la institución. El número de integrantes y el cargo que ocupen será designado por la institución. Cada proyecto evaluado será sometido a revisión por cada uno de los integrantes del CICUAL y corregido cuantas veces sea necesario. Una vez aprobado, se otorga un número de registro, se turna copia del dictamen al técnico del bioterio para que organice la entrega de ejemplares y se guarda el dictamen un mínimo de dos años.

De acuerdo con Cardoso de Martínez *et al.* (2007), para revisar, aprobar y elaborar un dictamen sobre el protocolo de investigación, se consideran:

1. Los objetivos y el motivo para utilizar animales.
2. La justificación de la especie animal y el número requerido.
3. La disponibilidad o adecuación de la metodología para que cause el menor impacto, daño o dolor.
4. El entrenamiento y/o experiencia del personal involucrado.
5. Los procedimientos de anestesia, analgesia y sedación adecuados.
6. Que no se dupliquen los estudios.
7. Que no se haga más de una intervención quirúrgica en el mismo animal.
8. Los criterios y mecanismos para la intervención oportuna, eutanasia en caso de dolor agudo.
9. Los cuidados posteriores al procedimiento.
10. Los métodos de eutanasia y eliminación de residuos biológico-infecciosos.
11. Un ambiente laboral seguro para el personal.
12. Los requisitos de crianza, alojamiento y manejo no usuales.

En algunos casos, los protocolos de investigación y/o educación incluyen procedimientos poco comunes, pero esenciales para el objetivo. En tal caso el CICUAL debe avalar el correcto manejo de los animales de laboratorio y la pertinencia de la técnica, la reducción del dolor o estrés, el punto final del proceso, incluido el método de eutanasia. Algunas de esas técnicas son: inmovilización física, cirugías mayores con supervivencia, restricción de comida o líquidos, uso de adyuvantes, aplicación de estímulos nocivos, pruebas de irritación corneal o cutánea, implantación de tumores, muestreo de sangre por vía retro orbital o intracardiaca, y la modificación de las condiciones ambientales. Los integrantes del CICUAL deberán buscar literatura reciente para informarse sobre esas técnicas, los propósitos del estudio y el efecto sobre los animales, para poder tomar una decisión y comentarla con el interesado (imagen 40).

La participación del CICUAL es indispensable para las instituciones que trabajan con animales de laboratorio pues se trata de mejorar el proceso y la técnica con la que se abordará al ejemplar, de aplicar la legislación mexicana y el Principio de las 3R de Russel y Burch (1959) que comprende la Reducción, el Refinamiento y el Reemplazo de los animales de laboratorio.



IMAGEN 40. Cinco Libertades del bienestar animal.

GLOSARIO

Analgésico: fármaco para calmar o eliminar el dolor.

Anestesia: acto médico controlado en el que se usan fármacos para bloquear la sensibilidad táctil y dolorosa de un paciente, en una parte o en todo el cuerpo.

Angustia: ansiedad extrema o miedo.

Animal de laboratorio: animal usado en la investigación científica, desarrollo tecnológico e innovación, pruebas de laboratorio y enseñanza.

Animal para la investigación científica (animal de experimentación): animal que es utilizado para la generación de nuevos conocimientos, por instituciones científicas y de enseñanza superior.

Ansiedad: anticipación involuntaria de un daño o desgracia futuros, que se acompaña de un sentimiento desagradable o tensión.

Arteria: cada vaso que lleva la sangre oxigenada (exceptuando las arterias pulmonares), desde el corazón hacia las demás partes del cuerpo.

Asepsia: métodos o procedimientos que impiden o evitan el acceso de gérmenes patógenos o infecciosos.

Bienestar animal: es el estado en el que el animal tiene satisfechas sus necesidades de salud, de comportamiento y fisiológicas frente a cambios en su ambiente, generalmente impuestos por el ser humano.

Bioterio o vivario/vivarium: área, generalmente cerrada, para guardar y criar animales o plantas para observación o investigación bajo condiciones ambientales controladas.

Cecotrofia: reingestión de moco con las heces directamente del ano.

CICUAL: Comité Interno para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio.

Compasión: sentimiento humano que se manifiesta cuando se comprende el sufrimiento de otro ser y que se acompaña del deseo de aliviarlo, reducirlo o eliminarlo por completo.

Cunicultura: cría de conejos para el aprovechamiento de su carne y de sus productos.

Dolor: experiencia sensorial y emocional desagradable que pueden experimentar todos aquellos seres vivos que disponen de un Sistema Nervioso Central.

Estrés: reacción de los organismos vivos a diversos estímulos adversos, internos o externos, que tienden a alterar el equilibrio psicológico y fisiológico de un animal, a través de su exposición a condiciones extremas.

Ética: rama de la filosofía que estudia la bondad o la maldad de los comportamientos.

Eutanasia: sacrificio de un animal cuando se detecta un sufrimiento intenso, aplicando una técnica que sea rápida y sin dolor.

Fármaco: cualquier sustancia empleada con fines terapéuticos.

Fomites: objeto carente de vida o sustancia que si se contamina con algún patógeno viable, puede transferirlo de un lado a otro.

Gazapo: cría de conejo.

Modelo animal: es una especie no humana que se usa en investigación médica porque puede extrapolar aspectos de una enfermedad humana.

Omnívoros: aquellos que se alimentan tanto de animales como de plantas.

Privilegio: es la ventaja exclusiva o especial de que goza alguien por determinada circunstancia propia.

Sedante: sustancia química que deprime el Sistema Nervioso Central, resultando en efectos potenciadores o contradictorios entre: calma, relajación, reducción de la ansiedad, adormecimiento, reducción de la respiración y retardo de ciertos reflejos.

Tranquilizante: antidepresivo, ansiolítico, soporífico, relajante o sedante-hipnótico.

Vena: vaso sanguíneo que conduce la sangre desde los capilares hasta el corazón.

Volemia: volumen total de sangre circulante de un individuo

BIBLIOGRAFÍA

LEYES Y NORMAS DE INTERÉS

Ley de protección a los animales para el Estado de Veracruz de Ignacio de la Llave. *Gaceta Oficial de la Federación*, Veracruz, México, 24 de agosto de 2012.

Reglamento de bienestar y protección a los animales para el municipio de Xalapa, Veracruz. *Gaceta oficial*. Xalapa, Enríquez, Veracruz de Ignacio de la Llave, 30 de abril de 2013.

Ley federal de sanidad animal. *Diario Oficial de la Federación*, CDMX, México, 16 de febrero de 2018.

Reglamento de la Ley General de Vida Silvestre. *Diario Oficial de la Federación*, México, DF, 17 de abril de 2014.

Norma Oficial Mexicana NOM-051-ZOO-1995. Trato humanitario en la movilización de animales, *Diario Oficial de la Federación*, México, DF, 24 de febrero de 1998.

Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones Técnicas para la Producción, Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio. *Diario Oficial de la Federación*, CDMX, México, 22 de agosto de 2001.

Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental-Salud ambiental-Residuos peligrosos biológico-infecciosos-Clasificación y especificaciones de manejo. *Diario Oficial de la Federación*, México, DF, 22 de enero de 2003.

Reglamento de bienestar y protección a los animales para el municipio de Xalapa, Veracruz. *Gaceta Oficial*.

Reglamento de la Ley General de Vida Silvestre. *Diario Oficial de la Federación*.

REFERENCIAS

- BROOM, D. M. (1986). Indicators of poor welfare. *Brit. Vet. Journal*, 142 (6): 524-256.
- (1998). Welfare, stress and the evolution of feelings. *Adv. Anim. Behaveour*, 27: 371-403. DOI: 10.1016/S0065-3454(08)60369-1.
- BROOM, D. M. y K. G. Johnson (1993). *Strees and Animal Welfare*. London: Chapman & Hall.
- CANADIAN COUNCIL ON ANIMAL CARE (CCAC) (1993). *Guide to the care and use of experimental animals*. Ontario, Canada: Canadian Council on Animal Care.
- (1998). Las necesidades sociales y comportamentales de los animales de experimentación. Recuperado de http://iso9001.inr.gob.mx/Descargas/iso/doc/Manual_Canadiense.pdf
- CARDOSO DE MARTÍNEZ, C., A. Mrad de Osorio, C. Martínez C., Y. Rodríguez y F. Lolas S. (2007). *El animal como sujeto experimental. Aspectos técnicos y éticos*. Chile: Adros Impresores.
- DEGRAZIA, D., y A. Rowan (1991). Pain, suffering, and anxiety in animals and humans. *Theor Med. Bioeth.*, 12 (3): 193-211.
- DEL CAÑIZO LÓPEZ, J. F., D. López Marín, E. Ledó García y P. García Barreno (2008). Diseño de modelos experimentales en investigación quirúrgica. *Actas Urol. Esp.*, 32 (1): 27-40.
- DOLAN, K. (1999). *Ethics, animals and science*. London: Blackwell Science.
- DONALD R., G. (2001). *Animal Minds: Beyond Cognition to Consciousness*. Chicago: University of Chicago Press.
- DRESSER, R. (1988). Standars for animal research: looking at the middle. *J. Med. Philos.*, 13 (2): 123-143.
- FERNAN, A. (1991). *Conejos*. México: Trillas.
- GONZÁLEZ MURILLO, R. (2004). *Cunicultura*. México: Universidad Autónoma de Baja California Sur.
- HERNÁNDEZ, S. (2006). El modelo animal en las investigaciones biomédicas. *Biomedicina*, 2 (3): 252-256.
- HOLLANDS, C. (1980). *Compassion is the bugler. The struggle for animal rights*. Edinburg: McDonald Publishers.

- JAR, A. M. (2014). 1. Bienestar animal y el uso de animales de laboratorio en la experimentación científica. *Revista argentina de microbiología*, 46 (2): 77-79.
- LANGFORD, D. J., A. L. Bailey, M. L. Cahnda, S. E., Clarke, T. E. Drummond, S. Echols, S. Glick, J. Ingraio, T. Klassen-Ross, M. L. Lacroix-Fralish, L. Matsumiya, R. E. Sorge, S. G. Sotocinal, J. M. Tabaka, D. Wong, A. M. van der Maagdenberg, M. D. Ferrari, K. D. Craig y J. S. Mogil (2010). Coding of Facial Expressions of pain in the laboratory mouse. *Nature methods*, 7 (6): 447-449. DOI: 10.1038/nmeth.1445.
- LÓPEZ CORONADO, J. (2014). *Crianza, producción y comercialización de conejos*. Chile: Editorial Macro.
- LÓPEZ, M. (2002). El bienestar de la especie cunícola. *Lagomorpha*, 25 (120): 6-12.
- MOBERG, G. (2000). Biological Response to Stress: Implications for Animal Welfare, en J. G. P. Moberg y J. A. Mench (eds.). *The Biology of Animal Stress. Basic Principles and Implications for Animal Welfare*. USA, California: CABI Publishing.
- MOGIL, J. S. (2012). Sex Differences in Pain Inhibition: Multiple Explanations of a Controversial Phenomenon. *Nature Reviews Neuroscience*, 13 (12): 859-866.
- NAVARRO-HERNÁNDEZ, J., R. Ramírez Ojeda y C. Villagrán V. (2012). *Manual de procedimientos recomendables para la investigación con animales*. México: Samsara.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC) (2011). *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*. Washington, DC: National Academy Press.
- ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL (OMSA) (2013a). *Bienestar de los animales*. Logros de la OIE en el ámbito del bienestar animal. Recuperado de www.oie.int/es/bienestar-animal/
- (OMSA) (2013b). *Bienestar de los animales*. Código Sanitario para los Animales Terrestres. Recuperado de www.oie.int/index.php?id=169&L=2&htmfile=titre_1.7.htm.
- PACHECO, S., A. Carvallo y D. Pacheco (2014). Reflexiones éticas en relación a la experimentación en animales. *Rev. Medicina y Humanidades*, 5 (1): 87-94.
- PÉREZ, B., E. Soriano, O. Villanueva, F. Villegas, R. Hernández y A. Carmona (2007). *Guía de los anestésicos más utilizados en animales de laboratorio*. México, DF.
- RUSSELL, W. y R. Burch (1959). *The Principles of Humane Experimental Technique*. England: University Federation for Animal Welfare (UFAW).
- SHARP, P. y M. La Regina (1998). *The laboratory rat*. Florida: CRC Press.

SNEDDON L. U., R. W. Elwood, S. A. Adamo y M. C. Leach (2014). Defining and assessing animal pain. *Animal Behavior*, 97: 201-212.

SUCKOW, M. D. (2012). *The laboratory rabbit*. Florida: CRC Press.

UNIVERSITY OF ILLINOIS AT CHICAGO (2014). *The laboratory mouse*. <https://www.brl.uic.edu/?q=node/18>

VILLANUEVA, O. y R. Hernández (2004). *Manual en ciencias de los animales de laboratorio*. México: INCMNSZ.

WOLFENSOHN, S. y M. Lloyd (2003). *Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare*. UK: Blackwell Publishing Ltd.

ÍNDICE DE IMÁGENES

1. Anatomía externa de un roedor	24
2. Esqueleto de una rata	25
3. Sexado en ratones y ratas: a) hembras, b) machos	26
4. Apreciación de genitales en ratones	26
5. Sistema urogenital de una rata hembra	27
6. Sistema urogenital de una rata macho	28
7. Sistema digestivo de una rata	29
8. Anatomía externa de un conejo	32
9. Esqueleto de conejo	32
10. Identificación de sexos: a) hembra; b) macho	33
11. Sistema digestivo de conejo	34
12. Sistema urogenital de conejo hembra	35
13. Sistema urogenital de conejo macho	36
14. Escala de Grimace para ratas	42
15. Escala de Grimace para conejos	43
16. Métodos de eutanasia prohibidos	48
17. Bolsas indicadas para residuo biológico-infeccioso	49
18. Sujeción de ratones y ratas pequeñas. a) control de movimiento, b) presionar suavemente el cuerpo sobre la superficie, c) tomar el dorso con el pulgar más 3 dedos y con el meñique sujetar la cola	52
19. Inmovilización con una mano por debajo de los brazos de la rata	52
20. Inmovilización con sujeción del cuello y extremidades	53
21. Uso de cánula rígida	57
22. Aplicación de una inyección intramuscular, rata	58
23. Aplicación de una inyección intraperitoneal	59

24. Aplicación de una inyección subcutánea.....	60
25. Aplicación de una inyección intravenosa o extracción de sangre utilizando un cepo de restricción.....	61
26. Punción intracardiaca (únicamente con sacrificio posterior).....	62
27. Sangrado retro-orbital.....	63
28. Punción facial o submandibular.....	63
29. Manejo adecuado del conejo: a) sujeción con una mano asegurando desde la grupa, b) sujeción contra el cuerpo.....	65
30. Manejo de conejos de más de 4 kilos.....	66
31. Manejo de gazapos.....	66
32. Manejo de conejos heridos.....	67
33. Manejo de conejos sujetados con un paño.....	67
34. Manejo de conejo sujetado en un cepo de restricción.....	68
35. Vasos sanguíneos relevantes en la oreja del conejo.....	69
36. Punción cardiaca en conejo (únicamente con eutanasia posterior).....	70
37. Posición de la aguja hipodérmica desde un punto de vista caudal en una punción de vejiga.....	71
38. Aplicación de una inyección intramuscular.....	72
39. Aplicación de una inyección subcutánea.....	72
40. Cinco Libertades del bienestar animal.....	76

ÍNDICE DE CUADROS

1. Datos reproductivos de roedores y lagomorfos.....	37
2. Comportamientos que indican dolor en el animal.....	39
3. Vías de administración de sustancias (P = Permitido; NP = No permitido).....	45
4. Pre anestésicos y anestésicos recomendados de acuerdo con la especie.....	46
5. Aplicación de los agentes y métodos de eutanasia por especie.....	48
6. Lista de preguntas a contestar cuando se planifican los procedimientos.....	54
7. Obtención de muestra de sangre (P = Permitido; NP = No permitido).....	55
8. Tamaño de aguja para la administración de sustancias.....	56

Siendo rectora de la Universidad Veracruzana la doctora Sara Ladrón de Guevara, MANUAL DE LABORATORIO PARA EL MANEJO ADECUADO DE ANIMALES DE LABORATORIO, de Paola Sabina Contreras R., se terminó de imprimir en abril de 2021 en Impresos Santiago S. A. de C. V., Trigo 80 B, col. Granjas Esmeralda, Alcaldía Iztapalapa, CP 09810, Ciudad de México, tel. 55 56 46 24 01. La fuente tipográfica utilizada es Candara de 10/16 puntos. La maquetación fue realizada por Ma. Guadalupe Marcelo Quiñones. La edición estuvo al cuidado de Magdalena Cabrera Hernández.

La pregunta no es
¿pueden razonar?, ni
¿pueden conversar?, sino
¿pueden sufrir?

JEREMY BENTHAM

Este manual ofrece una herramienta de consulta sencilla y práctica para quienes deseen trabajar con animales de laboratorio, particularmente roedores (rata y ratón) y lagomorfos (conejos). Contiene conceptos básicos de anatomía, fisiología, alimentación, manejo y sujeción, administración de compuestos, toma de muestras biológicas, siempre considerando el principio de las 3R y el manejo ético. El manual comprende 40 imágenes y ocho cuadros explicativos.

ISBN 978-607-502-874-3



9 786075 028743 >



Universidad Veracruzana
Dirección Editorial