

201 157

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia



**MANUAL PARA EL CUIDADO Y UTILIZACION DE
LOS ANIMALES DE LABORATORIO:
RATAS, RATONES Y CONEJOS.**

TESIS PROFESIONAL

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO
ZOOTECNISTA**

P R E S E N T A :

MIGUEL ANGEL MARTINEZ CASTILLO

**Asesores: M.V.Z. Luis Ocampo C.
M.V.Z. Alfredo Butrón R.**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

	Páginas
Resumen.	
Introducción.	1
I. Manejo de los animales de laboratorio.	6
I.1 Alojamiento.	15
I.2 Higiene.	25
I.3 Disponibilidad y calidad del agua, el alimento y la cama.	28
I.4 Métodos de identificación y registros.	39
I.5 Precauciones ante emergencias.	45
II. Salud y calidad de los animales de laboratorio	
II.1 Cuidados veterinarios.	45
II.2 Genética.	53
II.3 Factores ambientales que afectan a los animales de laboratorio.	57
III. Políticas Institucionales.	
III.1 Sistemas de control de los animales.	57
III.2 Cualidades del personal que labore con los animales.	60
III.3 Experimentación con agentes peligrosos.	61
IV. Instalaciones.	
IV.1 Areas funcionales.	62
IV.2 Distribución de las instalaciones.	64
IV.3 Lineamientos para la construcción.	65
IV.4 Instalaciones especiales.	74
IV.5 Espacios o áreas recomendadas para los principales animales de laboratorio.	74
V. Cepas animales para usos especiales dentro de la investigación.	
V.1 Ratas espontáneamente hipertensas.	79
V.2 Ratones desnudos timo-deficientes.	81
Literatura citada.	83

**" MANUAL PARA EL CUIDADO Y UTILIZACION
DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO:
RATAS, RATONES Y CONEJOS."**

Martínez Castillo, Miguel Angel

Asesores: M.V.Z. Luis Ocampo C.
M.V.Z. Alfredo Butrón.

RESUMEN.

En el presente Manual se encuentran resumidas 65 citas bibliográficas acerca del manejo y utilización de los animales de los animales de laboratorio de mayor uso, haciendo particular énfasis en lo que se refiere al alojamiento, higiene, alimentación, sistemas de control y cepas para usos especiales entre otros.

Asimismo, se discuten algunas políticas institucionales en lo referente a las cualidades que debe reunir el personal que labore con éste tipo de animales, características de las instalaciones, básicamente áreas funcionales, - distribución e instalaciones especiales.

Finalmente, se describen los principales métodos de identificación, así como los sistemas de registro considerados más convenientes.

Mayo, 1984.

INTRODUCCION.

Dentro de la investigación y la docencia de todas las áreas de las ciencias biomédicas es común la utilización de las diferentes especies animales. Por ello es esencial el cuidado óptimo de los animales de laboratorio no solamente para asegurar el bienestar de los mismos, sino también para la obtención de resultados confiables en los experimentos emprendidos. Por lo tanto, es necesario reconocer la responsabilidad ética y científica que implica el trabajar con éste tipo de animales, y por ende, el compromiso de suministrarles las condiciones de alojamiento y de bienestar básicas generales, así como el conocer las características más esenciales acerca de su desarrollo fisiológico, su comportamiento, sus necesidades nutricionales, su capacidad reproductiva y su utilidad práctica.

El animal modelo ideal es aquél en donde la enfermedad se presenta de modo natural, o donde se puede inducir una enfermedad cuyas características sean, si no idénticas, similares a las de la especie a la que se quiere aplicar el conocimiento que del experimento se derive.

Los animales ofrecen múltiples ventajas como modelos experimentales, ya que nos dan la posibilidad de conocer la historia natural de la enfermedad cuya etiología, patogenia, signología y evolución pueden mantenerse en condiciones experimentales, sin la influencia de factores extraños que puedan modificarla. Además, su utilización como modelos experimentales nos proporciona otras facilidades, tales como:

- La posibilidad de reproducir la enfermedad en forma experimental, casi a voluntad, lo que permite disponer de la casuística necesaria.
- La posibilidad de hacer estudios fisiopatológicos que son difíciles de hacer en las personas u otros individuos enfermos.
- La posibilidad de utilizar medios terapéuticos (medicamentos, cirugía, fisioterapia, etc.) cuya aplicación en la especie humana, - por ejemplo, es sumamente peligrosa.
- La posibilidad de estudiar factores ambientales (físicos, nutricionales, etc.) y genéticos que influyen en la evaluación de las enfermedades.
- Además, el hecho de estudiar algunas enfermedades mediante animales endocriados ha abierto un inmenso campo de investigación en la inmunología, cancerología y sobre todo en lo concerniente a las enfermedades hereditarias. Lo mismo puede afirmarse de los estudios - que se realizan en animales libres de gérmenes (33).

La justificación de la utilización de los animales de laboratorio dentro de la investigación biomédica humana, así como los modelos experimentales dentro de los cuales se utilizan se resumen brevemente en los siguientes cuadros.

USOS DE LA RATA, EL RATON Y EL CONEJO DENTRO DE LA
INVESTIGACION BIOMEDICA.

ESPECIE	AREA DE INVESTIGACION
RATA	Nutrición: vitaminas, aminoácidos (fenilalanina, histidina, isoleucina, leucina, triptofano, metionina, lisina, arginina); metabolismo del calcio y el fósforo. Enfermedades infecciosas: crónica respiratoria, bronconeumonía, paratifoidea, estudios sobre el cáncer, adenitis linfocitaria purulenta, poliartritis, enfermedades del oído medio, etc.
RATON	Investigación genética. Investigación sobre el cáncer. Enfermedades infecciosas. Pruebas de diagnóstico animal.
CONEJO	Fisiología reproductiva: ovulación después del apareamiento, embriología y serología durante la preñez, diagnóstico de preñez (prueba de Friedman). Fisiología experimental. Detección de posible efectos teratológicos de las drogas, o de algunos otros agentes. Estudios sobre desórdenes del metabolismo. Enfermedades infecciosas.

(33)

CARACTERISTICAS ANATOMICAS, FISIOLÓGICAS Y METABOLICAS SIMILARES ENTRE LA RATA, EL RATON Y EL CONEJO CON RESPECTO A LOS HUMANOS.

ESPECIE ANIMAL	CONDICION, SISTEMA O ESTRUCTURA	
	SIMILAR	NO SIMILAR
RATA	Bazo Cambio pancreático senil Cambio esplénico senil	Circulación cardiaca Circulación omental Vesícula biliar Hígado Glándulas sudoríparas
RATON	Cambio hepático senil	Bazo Hígado
CONEJO	Vascularización esplénica Bazo Sistema inmunitario	Hígado Glándulas sudoríparas Aparato respiratorio.

(33)

MODELOS ANIMALES PARA EL ESTUDIO DE DIVERSAS ENFERMEDADES HUMANAS EN DONDE SE UTILIZAN RATAS, RATONES Y CONEJOS.

1. ENFERMEDADES METABOLICAS Y POR DEFICIENCIAS NUTRICIONALES.

MODELO ANIMAL	ESPECIE	EQUIVALENCIA EN EL HUMANO
Amiloidosis adrenal	ratón	insuficiencia adrenal
Alcoholismo	rata	pancreatitis
Amiloidosis	ratón,rata	amiloidosis
Deficiencia de ADH	ratón	diabetes insípida
Arteriosclerosis	ratón,conejo	arteriosclerosis
Def. de biotina	rata	Def. de biotina
Desarrollo corporal	rata, ratón	Desarrollo infantil
Hiperglicemia y obesidad	rata, ratón	Hiperglicemia y obesidad
Hipocalcemia	conejo	Hipoparatiroidismo agudo
Deficiencia lipotrópica	rata	Hígado graso
Def. de magnesio	rata	Def. de magnesio
Metabolismo muscular	rata	Metabolismo muscular
Distrofia muscular	ratón,conejo	Distrofia muscular
Degeneración mielínica	ratón	Degeneración mielínica
Calcificación de corazón	ratón	Calcificación de corazón
Depleción de sodio	rata	Hipertensión
Inanición	rata	Metabolismo de lípidos y carbohidratos.
Ulceras gástrica y duodenal	rata	Ulceras gástrica y duodenal.
Desnutrición	rata	malnutrición
Def. de Vit. A	rata, ratón	Def. de Vit. A
Def. de Vit. B ₁₂	ratón	Def. de vit. B ₁₂

(33)

2. ENFERMEDADES HEREDITARIAS.

MODELO ANIMAL	ESPECIE	EQUIVALENCIA EN EL HUMANO
Acondroplasia	ratón,conejo	Acondroplasia
Albinismo	ratón	Albinismo
Aminoaciduria	ratón	Aminoaciduria
Anemia hereditaria	ratón	Anemia siderocítica
Anemia hipocrómica	ratón	Anemia hipocrómica
Anemia hemolítica	ratón	Anemia hemolítica
Ataxia hereditaria	ratón	Ataxia hereditaria
Enfermedades autoinmunes	ratón	Lupus eritematoso sistémico
Diabetes insípida	ratón	Diabetes insípida
Glaucoma hereditario	conejo	Glaucoma
Alopecia	ratón	Alopecia
Hidronefrosis	rata	Hidronefrosis
Enfermedades inmunoproliferativas	ratón	Coriomeningitis linfocítica
Osteoporosis	conejo	Osteoporosis
Espina bífida	ratón,conejo	Espina bífida.

(33)

3. ENFERMEDADES ENDOCRINOLÓGICAS.

<u>MODELO ANIMAL</u>	<u>ESPECIE</u>	<u>EQUIVALENCIA EN EL HUMANO</u>
Amiloidosis adrenal	rata	Insuficiencia adrenal
Hipertrofia de la corteza adrenal	ratón	Hiperadrenocorticismo
Diabetes insípida	rata	Diabetes insípida
Diabetes mellitus	rata, ratón	Diabetes mellitus
Adiposidad familiar	rata, ratón	Obesidad
Hipertrofia de los Islotes de Langerhan	ratón	Obesidad
Hipotiroidismo	ratón	Hipotiroidismo
Tiroiditis	conejo	Tiroiditis crónica

(33)

4. ENFERMEDADES RELACIONADAS CON LA FISIOLÓGIA REPRODUCTIVA.

<u>MODELO ANIMAL</u>	<u>ESPECIE</u>	<u>EQUIVALENCIA EN EL HUMANO</u>
Mastitis bacteriana	ratón	Mastitis bacteriana
Deficiente desarrollo gonadal	conejo	Deficiente desarrollo gonadal
Tumor maligno ovárico	rata, ratón	Tumor maligno ovárico
Persistencia de cuerpo lúteo	ratón	Persistencia de cuerpo lúteo
Hipocalcemia postparto	conejo	Hipocalcemia de la lactación
Anormalidades cromosómicas sexuales	ratón	Anormalidades cromosómicas sexuales
Teratomas testiculares	ratón	Teratomas testiculares
Toxemia de la preñez	conejo, rata	Toxemia de la preñez
Tumores uterinos	conejo, ratón	Tumores uterinos

(33)

5. INVESTIGACIÓN SOBRE EL CÁNCER.

<u>MODELO ANIMAL</u>	<u>ESPECIE</u>	<u>EQUIVALENCIA EN EL HUMANO</u>
Adenocarcinoma	conejo	Adenocarcinoma (enfermedad con similitudes reservadas).
Papiloma	conejo	Papiloma
Tumor de gánlios linf.	ratón	Enfermedad de Hodgkins
Carcinoma hepatocelular (por aflatoxinas)	rata	Carcinoma Hepatocelular primario

(33)

Ahora bien, después de lo anteriormente expuesto es, sin embargo, importante hacer notar que aunque las investigaciones respecto a los animales de laboratorio han alcanzado un gran desarrollo en los últimos años muchos de los conocimientos que de ellos se tienen son aún inadecuados, y éstas deficiencias hacen resaltar la importancia de que todos los investigadores estén conscientes de los efectos que la variación en la salud de los animales o en el medio ambiente, puedan tener en el desarrollo y en los resultados de sus experimentos.

I. MANEJO DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO.

Antes de abordar propiamente el manejo de los animales de laboratorio es conveniente revisar, aunque sea en una forma breve, sus características biológicas y fisiológicas esenciales. Debido a que en el presente trabajo nos abocaremos formalmente solo a tres especies animales de laboratorio (rata, ratón y conejo), a continuación se proporciona la siguiente información respecto a éstas.

A. Rata.

La rata de laboratorio (Rattus norvegicus o Rattus rattus) pertenece al orden Rodentia y a la familia Muridae. Su antepasado es la rata doméstica que ha compartido con el hombre, por mucho tiempo, su vivienda, su alimento y sus enfermedades. La utilización de la rata como animal de laboratorio ha tenido un gran auge durante los últimos 70 años (55). Su gran inteligencia y su docilidad son características deseables dentro de la investigación (26). Últimamente las ratas S.P.F. (libres de patógenos específicos; ver pág. 56) han adquirido una gran popularidad y sin embargo, las ratas convencionales siguen utilizándose mucho.

La rata es un animal de comportamiento bien definido, de fácil manejo; requiere poco espacio vital; muy prolífica. Tiene la ventaja sobre el ratón en que proporciona una mayor cantidad de material experimental (16). Generalmente no es agresiva, aunque puede llegar a morder.

TAXONOMIA:

Orden: Rodentia
Suborden: Myomorpha
Familia: Muridae
Género: Rattus
Especie: norvegicus (rata noruega) o rattus (negra o rata de tejado).
Origen: Asia (viejo mundo).

Principales razas utilizadas en la investigación:

Wistar
Long Evans Hooded
Sprague Dawley (3,55)

B. Ratón.

El ratón de laboratorio (Mus musculus) pertenece al orden Rodentia y a la familia Muridae, igual que la rata. Su antepasado es el ratón doméstico. Durante el siglo XIX el ratón pasó a ser un instrumento de laboratorio después de grandes esfuerzos encaminados a su crianza. Poco después, en 1900, fueron objeto de estudio de las nuevas teorías sobre la herencia. En 1909 Clarence Cook comenzó la ex-

perimentación consanguínea sobre la herencia del color de la piel; desarrolló la primera cepa consanguínea a partir de 20 apareamientos entre hermanos y la denominó DBA. El ratón albino suizo es el antepasado de la mayoría de los actuales ratones blancos de laboratorio. El ratón albino suizo fue llevado a los Estados Unidos en 1926 (51).

Históricamente el principal uso del ratón ha sido el estudio de la herencia, sin embargo, debido a la gran variedad de líneas desarrolladas se han detectado similitudes entre los procesos infecciosos padecidos por éstos y otras especies animales, entre ellas - el hombre. Por ésta razón el ratón pasó a representar un modelo biológico muy útil (33).

Sus ventajas como animal de laboratorio son bastantes. Por su diminuto tamaño requiere de poco espacio y equipo. Es una especie muy prolífica (muy corto intervalo de generación); gran variedad de cepas disponibles; muy bajo costo. Sus desventajas consisten en que por su tamaño no es posible coleccionar a partir de él grandes cantidades de material para la investigación, y además, filogenéticamente está muy distante de los primates, especialmente del hombre, por lo que es arriesgado la extrapolación de los datos experimentales sin una correcta evaluación (51).

TAXONOMIA:

Orden: Rodentia
Suborden: Myomorpha
Familia: Muridae
Género: Mus
Especie: musculus
Origen: Asia (old world).

Principales razas utilizadas en la investigación:

Albina o Suiza (la más común). Ejemplo de cepa: BALB/C
Cepa Negra C 57/B.

(3,55)

C. Conejo.

El conejo es un mamífero del orden Logomorpha y de la familia de los lepóridos. Su nombre proviene del latín "cuniculus" que significa literalmente "trabajo en minas". Se considera que los chinos, hindúes, egipcios y griegos ya criaban el conejo; de Grecia pasó a España cuyo nombre en hebreo es precisamente Spanija="tierra de conejos".

De España se difundió a las Islas Baleares y de aquí a Italia; posteriormente fue introducido a Inglaterra por cazadores aficionados. Sin embargo, fue hasta después de la Revolución de 1830 en Europa cuando se inició la industrialización de la cunicultura en Francia, Bélgica, Holanda y otros países.

Es un animal tan fecundo que produjo en las Islas Baleares y en Australia una verdadera catástrofe ecológica.

En México ya se conocía el conejo (tochtli) en la época precolombina.

lonial' (como lo citan los historiadores, entre ellos Francisco - Javier Clavijero), el cual lo ofrecían a su Dios Quetzalcóatl. Su carne y piel fueron apreciados como alimento y para la confección de prendas de vestir, respectivamente.

Fue tan importante éste animal para nuestros antepasados - que incluso el primer período o indicción de 13 años del calendario tolteca lleva el símbolo de tochtli, y representaba un nexo - con los fenómenos extrasensoriales y con el misticismo.

TAXONOMIA:

Orden: Lagomorpha

Familia: Leporidae

Género: Oryctolagus

Especie: cuniculus

Otros géneros: Lepus (liebre); Sylvilagus (conejo de rabo blanco).

Origen: Europeo.

Principales razas utilizadas en la investigación.

Nueva Zelanda

California

(3,55)

Para facilitar el manejo de datos y para una presentación más objetiva de la información a continuación se proporcionan los siguientes cuadros.

DATOS ANATOMO-FISIOLOGICOS	RATA	RATON	CONEJO
Promedio de peso al nacer	5-6 gramos	1.5 gramos	60-100 gramos
Edad y peso al destete	23 días, de 40-50 gramos	18-21 días de 10-12 gramos	4-8 semanas 200-300 gramos
Edad a la pubertad	50-60 días	35 días	4-12 meses
Madurez sexual: hembra	100 días: 300 g	60 días: 25 g	6 meses
macho	100 días: 350 g	55 días: 30 g	6 meses
Peso promedio hembra	300 g.	30 g	3 500 g
del adulto: macho	350 g	30 g	3 500 g
Proporción de sexos para el apareamiento	Por parejas 1 ♂/4 ♀	1 ♂/4-6 ♀	Por parejas Colonias: 1 ♂/10 ♀
Tipo de ciclo estral	Poliéstrico cont.	Poliéstrico cont.	Poliéstrico irreg.
Duración del ciclo estral	4.5 días	4-5 días	15-16 días
Duración del estro	12 horas X (9 - 20 hrs.)	9 - 20 hrs.	acepta al ♂ siempre.
Forma de determinación de las fases del ciclo estral	Frotis vaginal	Frotis vaginal	Frotis vaginal
Tipo de ovulación	Espontánea	Espontánea	Inducida
Momento de ovulación	10 hrs después de iniciado el estro	2-4 hrs después de iniciado el estro	10 hrs postcópula
No. de cromosomas diploide (2n)	42	40	44
Lugar de depósito del esperma	Utero	Utero	Vagina anterior
Momento de fertilización	7-10 hrs postcoito	2 hrs postcoito	2 hrs postovulac.
Lugar de fertilización	Oviducto	Oviducto	Oviducto
Tiempo de tránsito del huevo del oviducto al útero.	3 días	1.75 días	2.5 - 4 días
Tiempo de tránsito del esperma de la vagina al oviducto	0.5-1 hora	0.25-1 hora.	4 - 3 hrs.
Implantación del huevo	5.5 días	4.5 días	7.5 días
Longevidad del esperma en el tracto femenino	10-14 hrs	6 hrs	30 hrs
Longevidad fertilizable del óvulo en el oviducto	10-12 hrs	10-12 hrs	8 hrs

DATOS ANATOMO-FISIOLOGICOS	RATA	RATON	CONEJO
Período de gestación	20-22 días	19 días	30-35 días
Tipo de placentación	endoteliocorial discoidal	endoteliocorial discoidal	endoteliocorial discoidal
Tamaño de la camada	6-12	1-12	1-13
No. de tetas en la hembra	12: 3pares torácicas 3pares abdomin.	10: 3 pares torácicas 2 pares abdomin.	10: 3 pares torác. 2 pares abdomin.
Tipo de útero	Bicornato, unidos a nivel del cervix	Bicornato	Bicornato; desembocan en la vagina en for- ma independiente.
Inmunidad pasiva	Prenatal: saco vitel. Postnatal por calos- tro	Prenatal: placenta Postnatal: calostro	Prenatal: saco vite- lino. No por placent ta ni calostro.
Composición de la leche	75 % de agua 10-15 % grasa 7-12 % proteína 3-3.5 % azúcares	75 % agua 10-12 % grasa 9 % proteína 3% azúcares	73 % agua 10-15 % grasa 10-15 % proteína 2 % de azúcares
Retorno al estro postparto	48 hrs	14-48 hrs	Inmediato
Pseudopreñez	--	1-3 semanas después de esterilizada la ♀	Muy común
Vida productiva: macho	1 año	1-1.5 años	1-3 años
hembra	1 año (menopausia= 15-18 meses)	10-12 meses (6-10 camadas)	1-3 años
Longevidad promedio	2.5 años (máximo 3 años)	2 años (máximo 3 años)	5.5 años (máximo 13 años)
Actividad	Nocturna	Nocturna	Crepuscular
Sexado	Neonato: distancia anogenital Adultos: genitales externos	Neonato: distancia anogenital Adultos: genitales externos	Neonato: distancia anogenital Adultos: genitales externos

**VALORES HEMATOLOGICOS, CARDIOVASCULARES
Y RESPIRATORIOS**

	RATA	RATON	CONEJO
Volumen total de sangre (ml/Kg peso)	58	78	60
Tiempo de coagulación (segundos)	20	14	60-360
Longevidad de los eritrocitos (días)	45-68	20-30	45-70
Diámetro de los eritrocitos (micras)	6.8	6.6	7
Tasa de sedimentación de eritrocitos (ml/hora)	0.7-1.8	--	2
pH sanguíneo	7.35	--	7.35
Cantidad de eritrocitos ($10^6/\text{mm}^3$)	6-10	6-11	4.5-7
Hematocrito (Ht) (ml/100 ml = %)	46	41.5	41.5
Cantidad de plaquetas ($10^3/\text{mm}^3$)	702-796	246-339	170-1120
Hemoglobina (gm/100 ml)	14.8	14.8	13.6
Cantidad de leucócitos ($10^3/\text{mm}^3$)	14	8	9
Neutrófilos (%)	22.14	25	45.55
Eosinófilos (%)	2.14	1.87	2
Basófilos (%)	0.71	0.62	5
Linfocitos (%)	72.85	68.75	38.88
Monocitos (%)	2.14	3.75	8.11
Frecuencia respiratoria (por minuto)	66-114	84-230	38-60
Presión sanguínea: sistólica	116	113	110
diastólica	90	81	80
Frecuencia cardiaca (por minuto)	261-600	330-780	123-304
Temperatura rectal (°C)	38.2	37.4	39.5

MUESTREO	RATA	RATON	CONEJO
Sangre	Corte de cola, seno conjuntival, corte de dedo, punción cardiaca*,	Igual que en la rata.	Vena marginal de la oreja, punción cardiaca.
* Indeseable en animales valiosos.	punción en la vena de la cola, punción de la v. yugular, decapitación*, incisión de yugular*.		
Heces y orina	Recolectar orina y heces al manipularlos estrechamente. Mediante jaulas metabólicas.	Igual que en la rata.	Igual que en la rata.

ADMINISTRACION DE FARMACOS	RATA	RATON	CONEJO
Vía Subcutánea	Debajo de la piel del cuello.	Igual que en la rata.	Debajo de la piel de la espalda.
Vía Intramuscular	Músculos de los miembros posteriores. Aguja # 25,27.	Igual que en la rata.	Igual que en la rata. Aguja # 22,25.
Vía Intraperitoneal	Parte posterior del abdomen, dirección paramedial.	Igual que en la rata.	Igual que en la rata.
Vía Endovenosa	Vena lateral de la cola; nunca soluciones oleosas. Aguja # 27.	Igual que en la rata.	Vena marginal de la oreja.
Vía Oral	Por sondeo esofágico mediante sondas apropiadas. (Ver Figuras 1,2)	Igual que en la rata.	Por sondeo esofágico o mediante una jeringa - s/aguja (en el espacio interdentario).

(3,11,16,61)

Fig.1. Vías de administración de fármacos y vías de sangrado en el ratón.

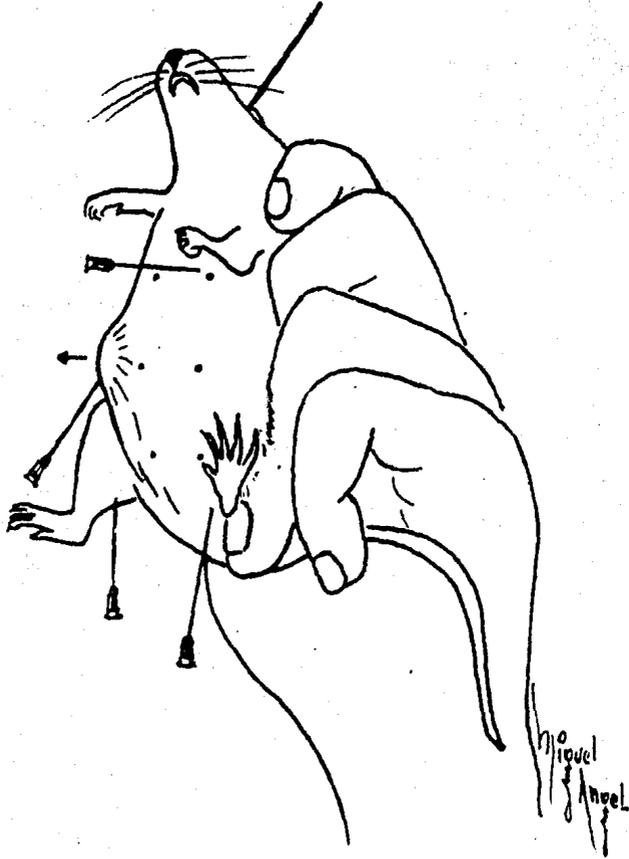
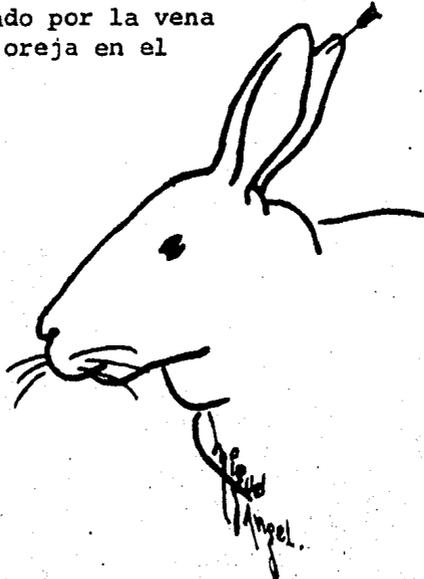


Fig.2. Administración de fármacos y vía de sangrado por la vena marginal de la oreja en el conejo.



ALGUNOS DATOS ADICIONALES.

A. Rata.

La rata y otros roedores tienen un páncreas difuso, el cual tiene la apariencia de grasa mesentérica en la región del duodeno. Su extirpación requiere de técnicas de microcirugía muy finas.

La rata no posee vesícula biliar.

La rata presenta un estro postparto y diapausa facultativa cuya duración está relacionada con el número de crías y la lactación.

Las ratas entran en estro continuo si se mantienen siempre bajo iluminación constante.

Las ratas no experimentan los efectos Whitten, Lee Boot y Bruce que sí son experimentados por los ratones (16)

B. Ratón.

El ratón es un animal asustadizo, pero muy sociable, sumamente gregario y siempre tiende a agruparse. El comportamiento antisocial está limitado a los machos adultos al agregar otros machos a su territorio. Por ello, el confinamiento individual prolongado los hace más agresivos, hiperactivos y experimentan leucopenia y eosinopenia. En las hembras no es tan marcado éste efecto pero sí lo llegan a manifestar después del confinamiento prolongado (51).

"Alteraciones" de la capacidad reproductiva de las hembras:

- a) Efecto Whitten: comprende dos principios o condiciones: 1) hembras agrupadas en jaulas sin un macho tienden a entrar en anestro; 2) si éstas hembras de la condición anterior son expuestas al olor del macho inmediatamente comenzarán su ciclo y entrarán en estro a las 72 horas (51). Estos fenómenos pueden aprovecharse para sincronizar estros y pariciones.
- b) Efecto Lee Boot: Algunas hembras tienden a entrar en pseudopreñez cuando son mantenidas juntas sin un macho (51).
- c) Efecto Bruce: Bloqueo de la preñez. Si las hembras preñadas son removidas y expuestas a otro macho dentro de las primeras 24 horas de gestación, la preñez será impedida, los embriones se reabsorben y la hembra se cruza con el otro macho. Sin embargo, éste efecto no se observa cuando ambos machos pertenecen a la misma estirpe sanguínea; en caso contrario se puede impedir hasta un 50 % de las preñeces. El manejo puede interferir éste fenómeno en ciertas estirpes (51).

Debido a éstos efectos, los métodos de alojamiento para crianza, las técnicas de limpieza de jaulas, la eliminación de los desperdicios y los movimientos de jaulas pueden jugar un papel importante en la capacidad reproductiva de los ratones.

C. Conejo.

El conejo es un animal de cola corta y de miembros traseros mayores que los anteriores. Coprófago (*). Muy rara es la vez que muere pero puede rasguñar con los miembros posteriores. Cuando se (*) La coprofagia es normal, excepto en animales axénicos (ver Clasificación Microbiológica de los animales de laboratorio, pág. 56) o después de la extirpación del ciego.

alojan varios machos juntos se pelean y pueden morderse los testículos. Son vegetarianos. Su orina es turbia y alcalina. Posee intestinos muy largos, especialmente el ciego.

Los conejos poseen atropina-esterasa, por lo que la atropina no produce el efecto esperado (31) y pueden comer las hojas de la belladona sin peligro (61).

Comúnmente presentan lipemia y hay que quitar el exceso de grasa del suero para poder utilizarlo. Esto se logra extrayendo el suero con éter (61).

La cópula en sí no asegura la gestación ya que hasta un 25% de las veces no hay ovulación postcoito.

Su esqueleto tan ligero los predispone a fracturas (61).

Definición de animal de laboratorio: "es toda especie animal susceptible de ser sometida a la experimentación con el propósito de obtener información (3).

MANEJO DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO. El manejo apropiado de los animales de laboratorio depende de muchos factores objetivos y subjetivos que interactúan en diferente forma de acuerdo a la institución en que se lleve a cabo. Para asegurar un alto nivel de confiabilidad en el cuidado de los animales, de las instalaciones y del equipo, es imprescindible contar con los servicios de personal capacitado para ello.

El manejo apropiado se puede definir, como un sistema de alojamiento y de asistencia que permita a los animales crecer, desarrollarse, madurar, reproducirse y comportarse normalmente, así como mantenerse saludable y en óptimo estado físico (19). El manejo apropiado también implica un adecuado control genético y del medio ambiente que permita minimizar las variaciones que pudieran modificar las respuestas de los animales ante los experimentos desarrollados. En resumen, podríamos decir que el manejo apropiado de los animales de laboratorio es esencial para el bienestar de los animales, para el óptimo aprovechamiento de los mismos y para que los resultados obtenidos de las investigaciones sean confiables (2).

I.1 ALOJAMIENTO.

El confinamiento de los animales de laboratorio con fines experimentales requiere de una serie de condiciones de comodidad y de higiene para operar con un máximo de control ambiental, una simplificación de los métodos de control de las enfermedades, una observación lo más clara y segura en relación a características fisiológicas y de conducta y un máximo aprovechamiento de la dieta que redunde en el desarrollo óptimo de la producción (19).

Con respecto a las condiciones de alojamiento para los animales de laboratorio es importante diferenciar los términos: alojamiento primario y alojamiento secundario. El alojamiento primario es el artefacto o recipiente en el cual está contenido el animal como tal. El alojamiento secundario es el espacio dentro del cual están distribuidos los alojamientos primarios, y consisten en

habitaciones específicas para animales. El máximo aprovechamiento de éste espacio (alojamiento secundario) se obtiene distribuyendo a los alojamientos primarios (usualmente jaulas o cajas) en anaquel o en baterías específicas con el propósito de aprovechar también el espacio vertical, sin embargo, éste tipo de confinamiento exige medidas y especificaciones estrictas para que los animales no se lastimen, la ventilación sea adecuada, la humedad se encuentre dentro de los límites razonables y la limpieza se haga en forma sencilla y práctica (26).

I.1.1 Alojamiento en jaula o en caja.

El sistema de alojamiento en jaula o en caja es el sistema más difundido, apropiado y práctico para los animales de laboratorio de talla menor; por ello, a continuación se listan los principales criterios de evaluación para un sistema de éste tipo.

1. El sistema debe conceder prioridad a la comodidad física del animal. Esta comodidad implica factores tales como el mantenimiento limpio y seco del alojamiento; el mantenimiento de los animales bajo una temperatura apropiada; el proveer el espacio suficiente al animal que le permita libertad de movimiento y tener un comportamiento normal; evitar restricciones físicas innecesarias; proveer el acceso conveniente para suministrar alimento y agua limpios, y, si los animales son alojados en grupos, prevenir y evitar la sobrepoblación.

2. Las operaciones necesarias para la funcionalidad del sistema de alojamiento deben ser compatibles con el mantenimiento de la salud de los animales; tales operaciones tenderán a proporcionar un desarrollo normal de los mismos, así como prevenir sus enfermedades.

3. El sistema de alojamiento debe facilitar un servicio y mantenimiento sanitarios efectivos. Por ejemplo: las esquinas y hendiduras en las jaulas deben evitarse por su dificultad para asearse, o también, los mecanismos para proporcionar el alimento y el agua deben ser de fácil acceso para llenarse y limpiarse.

4. Se considera obligatorio un manejo apropiado de las jaulas durante el lavado, el almacenamiento y el transporte de las mismas para así evitar daños y lesiones a los animales. Debe ponerse atención especial para evitar bordes afilados y agudos o alambres rotos para mantener en buenas condiciones los pisos de las jaulas, y reparar o reemplazar el equipo que ya no sea funcional.

5. El sistema debe considerar las necesidades operacionales del investigador, aunque si bien, es raro que los requerimientos de alojamiento sean incompatibles con éstas necesidades. En caso de requerirse, algunas veces se necesitará alojar a los animales en forma individual o en grupos bien determinados. Cuando dentro de la investigación se utilicen agentes biológicos, químicos o físicos peligrosos se requerirán instalaciones especiales de alojamiento para un mejor desarrollo del experimento y para seguridad del investigador (19).

Ahora bien, si se considera a la jaula o caja como el alojamiento primario más recomendable, es importante hacer notar al

gunas consideraciones respecto a su construcción. Las jaulas o cajas se deben fabricar a base de materiales no perecederos y lisos, que resistan el roer de los animales, sustancias corrosivas (excretas, desinfectantes, etc.) y que permitan la fácil limpieza y esterilización. Los materiales más aceptables son el hierro galvanizado, el acero inoxidable, el aluminio y el magnesio en forma de malla o reja para el suelo, paredes y techo, lo que permitirá la ventilación, la observación y la salida de las excretas. El zinc también se utiliza, y es muy ligero y durable, aunque excesivamente caro, por lo que su uso es restringido. La lámina galvanizada se utiliza mucho hoy en día para la construcción de jaulas grandes, por su alta resistencia y su bajo costo; su desventaja es que puede ser atacada por los orines o predispone al daño mecánico, además es muy pesada y no muy maleable. El aluminio o sus aleaciones son muy ligeras y durables pero los roedores son capaces de agredirlas. El acero inoxidable es excepcionalmente durable, fácilmente limpiable y permite un acabado muy fino pero su costo es muy alto (27).

Para jaulas de pequeños roedores se han utilizado materiales plásticos con gran éxito por ser muy ligeros, fácilmente lavables y de fácil almacenamiento; además, resisten la esterilización con autoclave y el ataque de los roedores. Dentro de éstos materiales destacan el polipropileno y el policarbonato (47).

Con respecto a los conejos, la anaquelaría debe construirse de materiales lisos y resistentes a la corrosión, fácilmente lavables y esterilizables; su diseño debe incluir espacio para las charolas receptoras de excretas. Si los anaqueles son de material tubular, sellar todas las aberturas para evitar la concentración de desechos en ellas (40).

Los anaqueles pueden ser fijos o móviles, siendo más aceptables éstos últimos por su práctico manejo y adaptabilidad a espacios. Si las jaulas o cajas se colocan en baterías, la cantidad superpuesta de éstas depende de la altura de la habitación, de las dimensiones de las jaulas o cajas y del grado de ventilación con que se cuente. En caso de que se alojen conejos se recomienda un máximo de dos niveles, ya que con un número mayor se dificulta el acceso y la observación (16,40).

Las medidas de las cajas o jaulas varían de acuerdo a la especie considerada y al autor referido, sin embargo, todos ellos consideran como factores determinantes de dichas medidas los siguientes:

- a) Que permitan la salida de las excretas fácilmente.
- b) Que las patas de los animales no atraviecen la malla (porque pueden quedar atrapados, o bien, fracturarse).
- c) Que los animales más pequeños no wayan a salirse por la malla o enrejado.

Algunos autores han propuesto fórmulas para determinar el tamaño óptimo de caja o jaula de los animales, generalmente basados en el peso corporal individual y en el número de éstos. La si-

guiente fórmula ha sido sugerida por Lane-Petter para calcular el tamaño mínimo de la jaula o caja:

$$A = n(3w + 5w) \quad \text{o} \quad A' = n(0.7w' + 6w')$$

Donde A consiste en el área de piso en pulgadas cuadradas (A' en centímetros cuadrados), w es el peso del animal en onzas (w' en gramos), y n el número de animales alojados. Esta fórmula constituye un buen instrumento para estimar el tamaño apropiado de los alojamientos de roedores, conejos y otros pequeños animales de laboratorio (33).

Más adelante se proporcionan mayores detalles de construcción y espacios vitales de acuerdo a la especie considerada (ver el capítulo IV, pág. 62).

I.1.2 Ejercicio.

Una de las discusiones predominantes en el aspecto del cuidado de los animales es la necesidad que éstos tienen de ejercicio dentro de su propio alojamiento. Se ha considerado al confinamiento en jaulas o cajas como un sistema restrictor de ejercicio, además de propiciar incomodidades físicas y psicológicas (2,28). Sin embargo, el confinamiento en jaulas y cajas no necesariamente influye en la cantidad de ejercicio que hagan los animales, a tal grado de que pudiera comprometer la condición del animal, y tampoco afecta necesariamente su bienestar (19).

El ejercicio se puede definir como cualquier tipo de actividad física. En caso de que sea necesario establecer un programa de ejercitación, deberá ser planeado y aplicado por un especialista en la materia. Se debe considerar al sistema de crianza, el temperamento de los animales, su expediente clínico y su condición física, así como, la naturaleza de la investigación y la duración del confinamiento para determinar las necesidades suplementarias de ejercicio. Si a juicio del especialista es necesario el ejercicio suplementario, éste se puede proporcionar de muchas maneras, algunas de las cuales pueden ser la utilización de "ruedas para ar dilla" (movidas por el mismo animal), o haciendo rodar al animal, o también, haciéndolo caminar o correr sobre una banda automática, o simplemente sacando al animal de su alojamiento primario y dejándolo en libertad dentro de su habitación específica (19).

Cuando se crían conejos bajo condiciones de laboratorio tales en donde el ejercicio manifiesto les sea prácticamente imposible, sólo pueden desplazarse a nivel del suelo, y en éste caso, se dificulta el control de su higiene, por lo que las condiciones bajo las cuales se crían los animales son extremadamente variables. Sin embargo, con dietas bien balanceadas es dispensable el ejercicio en algunas especies, a menos que el experimento específico implique al ejercicio como un factor determinante en los resultados. Cabe mencionar que se han reportado en algunos bioterios un exceso de depósitos adiposos en los animales de laboratorio, sobre todo a nivel mesentérico como resultado del desequilibrio entre la cantidad de ejercicio desarrollada y su nutrición (60).

I.1.3 Sujeción y aparatos restrictores.

La manipulación directa de los animales de laboratorio requiere de numerosas prácticas tales como identificación, sexado, castración, mediciones, inoculaciones, etc., para lo cual se necesitan técnicas de sujeción adecuadas. Las técnicas varían con la especie animal manipulada pero, todas deben cumplir como mínimo con los siguientes requisitos:

- a) Proporcionar comodidad al animal
- b) Proporcionar comodidad al técnico u operador.
- c) Brindar fácil acceso a cualquier región anatómica del animal.
- d) Propiciar seguridad para el animal.
- e) Propiciar seguridad para el técnico u operador (27,55).

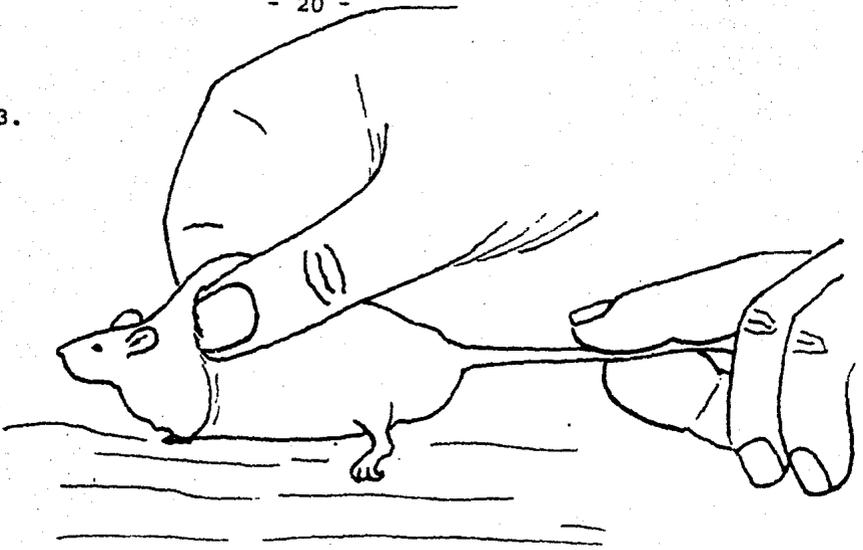
Para tal efecto pueden utilizarse simplemente las manos, o también, contenedores (aparatos restrictores) fabricados en materiales tales como madera, lámina metálica o acrílico. En cualquiera de los casos se debe tener en cuenta que algunas especies animales son excesivamente nerviosas y temerosas (conejos, hamsters), lo que puede conducir a la adopción de conductas de inquietud si el técnico se les aproxima en forma brusca o inesperada, por lo que el acercamiento debe ser tranquilo y sin ruido.

Una técnica adecuada de sujeción del ratón es tomar y presionar la cola con el dedo meñique, y tomar la mayor cantidad posible de la piel de la zona posterior del cuello, siendo deseable que se sujeten al mismo tiempo ambas orejas (esto se hace con los dedos índice y pulgar de la misma mano) (ver figuras 3,4). Una vez hecho esto el ratón puede levantarse libremente y se aconseja presionar ligeramente con los dedos medio y anular sobre la espalda del animal para evitar que pueda girar sobre sí mismo y tener la posibilidad de morder. Esta técnica de sujeción es segura y permite mover al animal y presentarlo en la posición que se desee (55).

La técnica de sujeción de la rata requiere igualmente habilidad y precaución ya que la mordida de éste roedor es muy dolorosa y riesgosa. Primeramente, la rata se toma de la cola con la mano que no va a inmovilizar propiamente al animal haciendo tracción en dirección caudal con respecto a la rata y preferentemente sobre una superficie no lisa. Es importante mencionar que la sujeción de la cola no debe hacerse en su parte terminal ya que a esta altura la piel no es muy resistente y se desgarraría fácilmente desprendiéndose ante una tracción no precisamente enérgica. Posteriormente, con la mano libre se sujeta al animal circundándolo con toda la mano a la altura del torax y proyectando los dedos índice y medio alrededor del cuello y a cada lado de la mandíbula para inmovilizar la cabeza y de ésta forma evitar la posible mordida. Una vez sujeta la rata de esta manera puede manipularse con seguridad (55) (ver figuras 5,6).

Con respecto a los conejos, éstos se sujetan tomando con la mano la piel de la región craneal, procurando dar suficiente apoyo a la cabeza, y con la otra mano se forma una verdadera silla

Fig.3.



Técnica de sujeción adecuada para el ratón.

Fig.4.



Técnica de sujeción adecuada para la rata.

Fig.5.

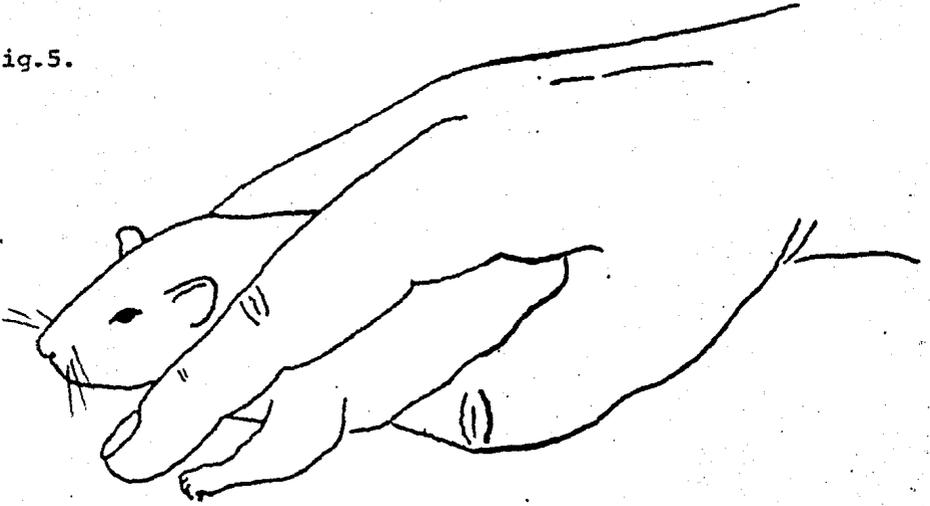


Fig.6.



en la que se asiente la región glútea del conejo sosteniendo en ésta forma el peso total del animal en ésta última mano y evitando así la exposición de los brazos a las garras del animal, que de hecho es su "arma" de defensa más peligrosa. Una vez así sujeto, podrá colocarse en posición decúbito dorsal sobre una mesa o sobre las piernas del técnico pasando entonces a tomar mano y pata derechas con la mano izquierda, y mano y pata izquierdas con la mano derecha. Esta técnica es útil para castración, rastreos anatómicos, inoculaciones intraperitoneales o intraplantares, etc., o cualquier otra actividad que exija libre acceso a las regiones pectoral, abdominal o inguinal (55) (Ver figuras 7,8).

Los contenedores o aparatos restrictores son dispositivos que inmovilizan o tienden a reducir al mínimo la actividad física del animal (19). Se utilizan cuando se van a manejar a los animales por un tiempo más prolongado del que se emplearía sujetándolos con las manos antes de que éstas se fatigaran; o bien, cuando el técnico no cuenta con un ayudante, o cuando las necesidades de la investigación así lo requieran. Los investigadores y técnicos deberán tomar en cuenta las siguientes consideraciones como guía para el uso adecuado de éste equipo restrictor:

● El período de restricción deberá ser el mínimo requerido, de acuerdo a los objetivos de la investigación.

● La restricción del movimiento por medio de estos dispositivos no se deben considerar como un método "anormal" de alojamiento en el laboratorio, sino como una técnica requerida por un objetivo específico de la investigación.

● Estos dispositivos ^{no} se deben utilizar para cualquier técnica de manejo simplemente por "comodidad" del manipulador.

● Deberá ponerse toda la atención que sea posible al desarrollo de enfermedades o lesiones que puedan asociarse al sometimiento continuo de los animales a estos dispositivos. Por ejemplo, es común que después de la utilización de los contenedores los animales presenten contusiones, heridas, o presenten edemas, o experimenten pérdida de peso, por lo que siempre será necesario mantener en observación a los animales recién manipulados para detectar oportunamente éstos trastornos y, en caso de ocurrir, proporcionar la asistencia veterinaria necesaria (19).

Es muy común la utilización de contenedores sobre todo en la manipulación de los conejos. Si se requiere acceso a las regiones dorsal, auricular, craneal o facial los contenedores apresan firmemente al animal en todo su cuerpo, de tal manera, que representa una gran utilidad para prácticas tales como la identificación auricular por tatuaje, inoculaciones intravenosas en la vena marginal de la oreja (ver figura 2), inoculaciones subcutáneas dorsales, etc. (19).

Jamás se debe tomar un conejo de las orejas sin apoyo extra, ya que en caso de hacerlo se provoca que el peso sea soportado en su totalidad por la cabeza y la desmedulación sería su consecuencia (40).

Cuando se requiera una sujeción prolongada del conejo en decúbito dorsal, que requiera de una seguridad extra de inmovili-

Técnica de sujeción adecuada para el conejo.

Fig. 7.

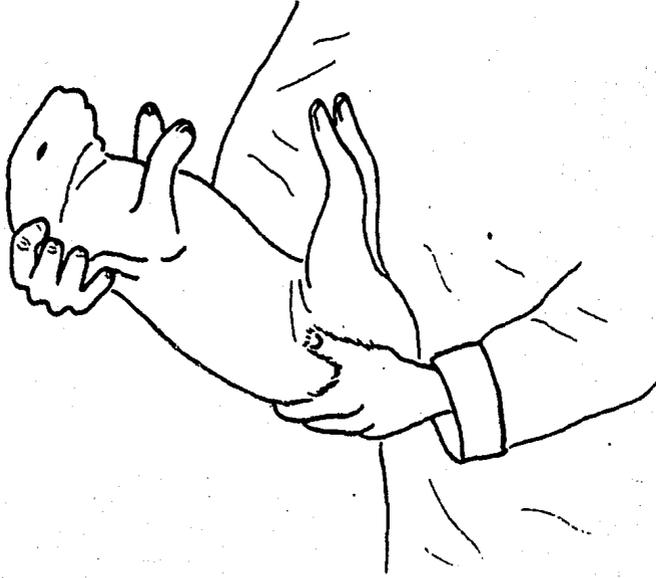
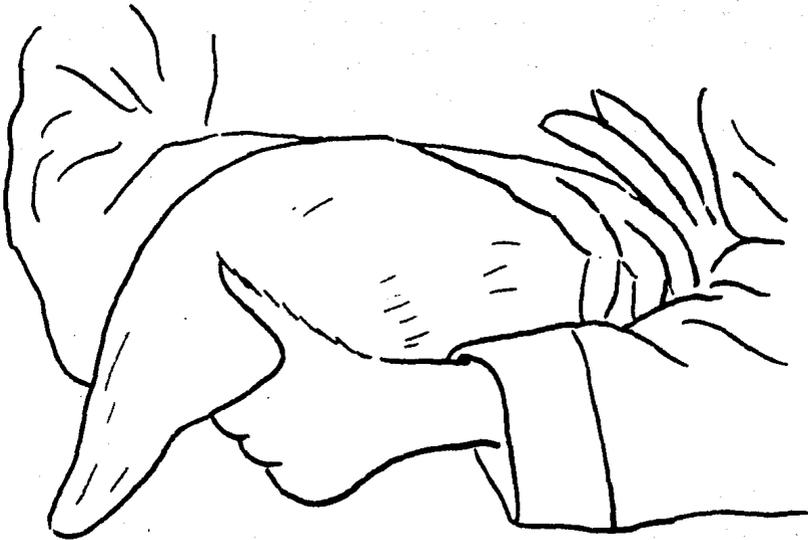


Fig. 8.



I.2 HIGIENE.

Las medidas higiénicas a seguir en pro de la salud de los animales de laboratorio deben orientarse en dos sentidos: hacia el medio ambiente y hacia los animales en sí. Para ello es necesario el establecimiento de un programa sanitario estricto que comprenda ambos aspectos.

Con respecto al medio ambiente, las prácticas sanitarias que se toman en cuenta son: el acondicionamiento de un clima - confortable, el uso de instalaciones y equipo apropiados, así como su mantenimiento; la extracción oportuna de las heces, orina, desechos alimenticios y camas; el suministro de una dieta balanceada y sana, el manejo adecuado de los animales; las prácticas atinadas de cuarentenas y aislamientos, la eliminación de - cadáveres en forma adecuada; el control de vectores y predadores como moscas, cucarachas, ratones, etc..

Con respecto a las medidas higiénicas aplicables sobre - los animales en sí sobresalen la selección de buenos reproductores para la obtención de mejores crías; la aplicación de las vacunas correspondientes; exámenes de laboratorio rutinarios; aplicación de la quimioterapia conforme al programa profiláctico - convenientemente escogido de acuerdo al tipo de experimentación que se desarrolle (19).

I.2.1 Limpieza.

Las instalaciones de los animales deben mantenerse siempre limpias y ordenadas. Asear las habitaciones, los corredores, los almacenes y demás áreas tantas veces como sea necesario, y para ello es imprescindible contar con:

- a) Aporte continuo de agua fría y caliente (a 82.2°C).
- b) Detergentes seleccionados por su facilidad de uso y por dejar el menor residuo posible.
- c) Jabones neutros.
- d) Sustancias bactericidas y antisépticas.
- e) Autoclave (27).

Las jaulas y cajas, así como sus accesorios se lavan y enjuagan perfectamente por lo menos una vez a la semana, no requiriendo esterilización o desinfección a menos que se hubiera presentado algún caso de enfermedad, cuando el experimento específico así lo requiera, o en el caso de introducir nuevos animales.

Es una buena práctica tener jaulas y cajas extras disponibles que permitan programar un sistema para el aseo de las mismas (47).

El lavado y enjuague de las cajas y jaulas debe realizarse con agua caliente a una temperatura de 82.2°C y durar un tiempo considerable, el suficiente como para asegurar la destrucción de organismos patógenos. La desinfección puede realizarse con - sustancias químicas apropiadas contando con el equipo necesario para enjuagar y no dejar residuos. Cuando la esterilización de jaulas y equipo sea necesaria se puede emplear un autoclave.

Los anaqueles se lavan una vez al mes o cada quince días;

los comederos , bebederos, tapones y charolas receptoras de excretas lávense como mínimo una vez por semana y se esterilizarán con la misma frecuencia.

La rutina diaria con respecto a los bebederos será cambiar el agua, previo vaciamiento de restos del día anterior y enjuague.

Las charolas receptoras de excretas jamás deben vaciarse dentro del área de animales, y los técnicos siempre tienen que usar equipo mínimo de seguridad consistente en mandiles, guantes y cubrebocas.

Los trapeadores, escobas y sacudidores serán exclusivos por habitación y se evitará moverlos de un lado a otro (19,27).

Las áreas de lavado y esterilización serán vecinas y contarán con un acceso al interior (área sucia o gris) de todo el material sucio y con una salida (área blanca o limpia) que conduzca hacia las áreas de animales por donde únicamente circulará material limpio

La limpieza de pisos, paredes, techos y puertas se debe hacer diariamente con agua simple y, por lo menos una vez a la semana, con una solución detergente y con una bactericida; para tal efecto son recomendables varias soluciones como las que se mencionan en el siguiente cuadro.

Desinfectantes Comunes.

<u>Tipo o clase</u>	<u>Efectivo contra</u>	<u>Observaciones.</u>
Cloruros y Yoduros	bacterias	Usualmente utilizados como el hipoclorito, pero no aplicables sobre el alojamiento de los animales.
Hipoclorito	bacterias virus	Efectivo; barato; es ligeramente corrosivo y no es recomendable su uso continuo sobre instrumentos metálicos. Es fácilmente neutralizado por heces y en superficies sucias.
Cuaternario de amonio	bacterias	Detergente bactericida muy utilizado para uso gral. No debe mezclarse con otros materiales, por ejemplo: jabones. Baja toxicidad.
Amfolitos Cresol	bacterias bacterias incluyendo <u>Mycobacterium tuberculosis.</u>	Igual al anterior. Buen desinfectante en general. Muy utilizado al 50 % en solución jabonosa.
Cresol y Clorxylenol	bacterias, no esporas	Buen desinfectante en general; puede utilizarse en altas concentraciones. Compatible con jabones.

Todas las personas que entren a las áreas destinadas a los animales deben portar ropa limpia y cubre-zapatos, mismos que se cambiarán al pasar de un cuarto a otro. El personal técnico se debe lavar las manos con jabón germicida antes de entrar a las áreas de los animales, así como cada vez que hayan manejado animales enfermos o muertos (19).

Es recomendable la realización de exámenes periódicos microbiológicos de todas las instalaciones para determinar la eficacia de los procedimientos de desinfección o de esterilización.

De hecho, con respecto a las rutinas de limpieza e higienización, cada bioterio crea sus propios sistemas de acuerdo a las facilidades con que disponga y a los objetivos que persiga con sus animales; por ejemplo: cuando se crían animales con flora definida o libres de patógenos específicos, estas prácticas se intensifican en cuanto a la calidad pero se disminuye su frecuencia con el objeto de que haya un menor manejo de los animales por parte de los técnicos y así controlar mejor las fuentes de contaminación o de infección de origen humano.

I.2.2 Disposición de desechos.

Todos los desechos se tienen que remover, coleccionar y manejar de una manera segura y sanitaria.

Las deyecciones son una fuente de agua y de elementos nitrogenados; el agua incrementa la humedad ambiental al evaporarse, y la sinergia entre ésta y los elementos nitrogenados da como resultado la formación de amoníaco (NH_3), el cual es muy nocivo para la salud de los animales; por otro lado, la descomposición del excremento conduce a la contaminación bacteriana por lo que se aconseja la extracción cotidiana de éstos productos, así como que el material utilizado como cama se deseché con la misma frecuencia, y se disponga de él incinerándolo junto con los cadáveres de animales (19).

Si los desechos se pueden utilizar, éstos deben guardarse en recipientes metálicos o plásticos herméticos, especialmente cuando dicho material consista en tejidos animales, cadáveres o desechos peligrosos. Los desechos peligrosos deben ser inactivados por autoclave o por otros medios apropiados. Si los desechos son de origen biológico se requiere un sistema de refrigeración para prevenir su descomposición.

Si existe un almacén de desperdicios éste debe estar separado de los demás almacenes, y mantenerse libre de cucarachas, roedores y otras plagas.

Además es recomendable establecer un reglamento que controle la disponibilidad de los desechos. El obedecer y cumplir éste reglamento es una responsabilidad concerniente a la institución (19).

I.2.3 Control de vermes y del mal olor.

Llevando a cabo un apropiado sistema de control de excretas y de roedores hay pocas posibilidades de infestación - por vermes, sin embargo, es un factor que siempre debe tenerse en cuenta.

En algunos casos se pueden utilizar pesticidas (cuando no está contraindicado específicamente por los experimentos en cuestión), pero su utilización en forma descontrolada puede conducir a la intoxicación de los animales. Con frecuencia se utilizan mosquicidas como las placas de vaponas, aunque se ha reportado disminución de la fertilidad en ratas y ratones por la utilización de éste producto. Siempre se deben evitar las acumulaciones nocivas de pesticidas en el medio ambiente por lo indeseable de sus consecuencias.

Para prevenir efectos tóxicos y una posible interferencia en los experimentos, los pesticidas solo se deben utilizar bajo la supervisión de un profesional en la materia. Sin embargo, se ha reportado que los insecticidas, aún en concentraciones sumamente pequeñas pueden inducir o inhibir la actividad del sistema microsomal enzimático hepático de los animales (17,24,46); lo mismo ocurre con contaminantes químicos tales como eucalipto y cloruro de vinilo empleados en desinfectantes y aromatizantes (22,58).

Los animales "escapistas" que salgan de sus jaulas respectivas y transiten por las demás instalaciones no se reinstalarán en sus jaulas sino que deberán sacrificarse (37).

El olor no es más que el resultado de la evaporación del amoníaco, y por ello podrá controlarse contando con sistemas apropiados de higienización y de ventilación. La ventilación consiste en el recambio total del aire de las habitaciones de 10 a 15 veces por hora. Es muy importante hacer notar que las cantidades excesivas de amoníaco en el medio ambiente también inhiben la actividad del sistema microsomal enzimático hepático de los animales (57).

I.3 DISPONIBILIDAD Y CALIDAD DEL AGUA, EL ALIMENTO Y LA CAMA.

El agua, el alimento y la cama de los animales son unas de las fuentes más importantes de contaminación, ya que con frecuencia constituyen vectores portadores e introductores de enfermedades, de parásitos, de plagas o de contaminantes químicos; por ello debe tenerse un estricto control sobre éstos dos aspectos primordiales:

- a) Que se hallen libres de aditivos como drogas, hormonas, antibióticos, pesticidas, pinturas, etc.
- b) Que se hallen libres de contaminaciones de origen animal (excretas, deyecciones) y de vermes (27).

I.3.1 Alimento.

Todos los animales de laboratorio deben tener libre acceso al alimento de acuerdo a sus requerimientos nutricionales particulares. La presentación del alimento debe ser tal que se

minimice su desperdicio y su contaminación. El alimento se suministra en cantidades suficientes para asegurar el crecimiento normal de los animales inmaduros y para mantener en un peso adecuado a los adultos. Debe estar limpio y libre de contaminantes, palatable y nutricionalmente adecuado (1).

La compra constante, la práctica y la experiencia familiarizan al criador con los fabricantes y proveedores de alimento, de tal manera que éste tendrá la oportunidad de elegir a su proveedor dado que realizará análisis periódicos del alimento para constatar su calidad.

Existen algunas normas de especificación que deben seguirse para tener seguridad en la utilización del alimento, y son:

- a) El bulto debe estar perfectamente sellado al recibirse.
- b) El bulto de alimento debe portar en un lugar visible la fecha de su elaboración. Algunos autores recomiendan su no utilización después de 90 días de haber sido elaborado (19), otros recomiendan como límite máximo 60 días (37), sin embargo, en realidad esto depende de las condiciones de almacenamiento y del tipo de alimento considerado.
- c) El alimento debe carecer absolutamente de olores.
- d) En caso de que el alimento sea esterilizable, debe consignarse un sello a la vista.
- e) El bulto debe portar en un lugar visible su análisis bromato lógico.
- f) El alimento debe estar envasado en recipientes limpios e impermeables (1,34).

NOTA: Se habla de bultos porque bajo condiciones de laboratorio no se recomiendan alimentos frescos por la gran variabilidad de su composición química y por el peligro de ser vectores de contaminantes tales como protozoarios y/o bacterias, aunque desde luego, si se tiene gran disponibilidad de este tipo de alimento y las necesidades nutricionales no son muy estrictas y determinantes en los experimentos a desarrollar, pueden utilizarse teniendo mucho cuidado en su manejo e higiene. Tampoco son muy recomendables los alimentos esterilizables por la merma de sus nutrientes durante el proceso (34).

El alimento debe almacenarse en áreas secas, frescas y libres de contaminantes a las que no tengan acceso perros u otros animales. La cantidad de alimento almacenada debe ser la suficiente como para satisfacer la demanda de la población animal, tener una cantidad extra de reserva y permitir una dinámica eficiente dentro de la bodega de alimento. Los alimentos almacenados por largos períodos se tornan gradualmente deficientes en cuanto a sus nutrientes, por ello, para preservar su calidad y prolongar su conservación el alimento se almacena a una temperatura de 15.5°C o a menos. Si se suministran alimentos tales como frutas, vegetales u otros productos perecederos será necesaria su refrigeración (19).

Los comederos deben ser accesibles a los animales y su disposición será de tal forma que se reduzca al mínimo la contaminación. Todos los comederos se asean por lo menos una vez a la semana y deben guardarse limpios, como ya se mencionó. Si se utilizan comederos automáticos, tomar las medidas necesarias para prevenir la compac-

tación, el deterioro o el endurecimiento del alimento.

Formas físicas del alimento. Las raciones de los roedores pueden ser suministradas en diferentes formas físicas. Los procedimientos experimentales generalmente son los que determinan el tipo de alimento más conveniente.

1. Pellet. Es la forma más eficiente para alimentar roedores de laboratorio. Es muy simple su manejo; su conformación facilita su gestión por parte de los animales. Es mínima la cantidad que se desperdicia. Sin embargo, tiene la desventaja de que una vez constituido el pellet ya no pueden agregársele aditivos.

2. Harina. Es ineficaz como forma de alimento para roedores porque éstos tienen una gran tendencia a desperdiciar el alimento. Requiere de equipo especial. Tiene la ventaja de que facilita la agregación de aditivos y su homogeneización.

3. Hojuelas. Los roedores lo desperdician mucho por ser un producto de baja densidad y debe suministrarse constantemente.

4. Alimento cocido. Permite contener una baja población microbiana en el alimento. Este tipo de alimento debe ser considerado cuando los otros métodos de descontaminación del alimento resulten imprácticos.

5. Alimento semihúmedo o en forma de gel. Permiten la adición de componentes de la ración cuya presentación sea en polvo o cuando éstos componentes sean altamente tóxicos. Generalmente son más palatables que las raciones secas. Son muy susceptibles a la contaminación y al crecimiento bacteriano. Se suministran más frecuentemente que las raciones secas e involucran un mayor trabajo.

6. Líquido. Los líquidos son utilizados para estudios especiales (38).

Aunque ya se mencionó que no se recomienda utilizar alimento esterilizable, éste procedimiento podrá realizarse mediante un autoclave (63) o podrá pasteurizarse (9). Así mismo, se debe cerciorar si éstos procesos no demeritan la calidad del alimento (por sus constituyentes) o si existe el peligro de formación y/o activación de antimetabolitos.

La radiación también es un proceso efectivo para descontaminar el alimento (30), pero lo costoso de este procedimiento y el desconocimiento acerca de la formación de mutantes químicos es la causa de su limitado uso.

Necesidades alimenticias. En general, las necesidades de alimento en cuanto a volumen son las siguientes:

- a) Ratón: 5 g/día. Aprox. 12 g/100 g de peso corporal.
- b) Rata: 5 g/100 g de peso corporal/día.
- c) Conejo: 5 g/100 g de peso corporal/día (6,11).

Cuando se tienen los insumos necesarios para formular la dieta de los animales deben considerarse los requerimientos nutricionales básicos específicos de especie y adecuados a la edad y al sistema de producción.

REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES DE LA RATA.

Nutrientes expresados en porcentaje o en cantidad por Kg de alimento. Los nutrientes están expresados en base seca.

<u>NUTRIENTE</u>	<u>CRECIMIENTO</u>	<u>MANTENIMIENTO</u>	<u>GESTACION</u>	<u>LACTANCIA</u>
Energía Metabolizable (kcal/Kg)	4000	4000	4000	4000
Grasas (%)	5.5	5.6	5.6	5.6
Ac.Grasos Esenc.				
Macho (%)	0.67	--	--	--
Hembra (%)	0.24	--	0.244	0.33
Proteína Neta (%)	13.3	4.4	13.3	13.3
Aminoácidos netos				
L-arginina (%)	0.67	--	0.83	0.83
L-aspargina (%)	0.44	--	--	--
L-ác.glutámico (%)	4.4	--	--	--
L-histidina (%)	0.33	0.08	0.60	0.60
L-isoleucina (%)	0.61	0.48	0.61	0.61
L-leucina (%)	0.83	0.28	0.83	0.83
L-lisina (%)	1	0.16	1.38	1.38
L-metionina (%)	0.67	0.26	0.67	1.1
L-fenilalanina-				
L-tirosina (%)	0.89	0.21	0.89	0.89
L-prolina (%)	0.44	--	--	--
L-treonina (%)	0.56	0.19	0.56	0.56
L-triptofano (%)	0.17	0.08	0.22	0.22
L-valina (%)	0.67	0.34	0.67	0.67
aa's no esenc. (%)	0.61	0.47	0.97	0.93

REQUERIMIENTOS MINERALES:

Calcio (%)	0.56	--	0.67	0.67
Cloruro (%)	0.06	--	0.028	0.020
Cobre (mg/kg)	5.6	--	--	--
Iodo (mg/kg)	0.17	--	0.17	0.17
Hierro (mg/kg)	38.9	--	--	--
Magnesio (%)	0.04	--	0.056	0.056
Manganeso (mg/kg)	55.6	--	56	37
Fósforo (%)	0.44	--	0.56	0.56
Potasio (%)	0.20	--	0.16	0.56
Selenio (mg/kg)	0.04	--	--	--
Sodio (%)	0.06	--	0.06	0.06
Zinc (mg/kg)	13.3	--	--	--

(1,16,34).

Necesidades vitamínicas de la rata:

VITAMINA	CRECIMIENTO	MANTENIMIENTO	GESTACION	LACTANCIA
Vitamina A (mg/retinol/kg)	0.67	--	4	4
Vit D (UI/Kg)	1111	--	--	--
Vit E (mg/Kg)	39	--	33	22
Vit K (mg/Kg)	0.06	--	--	--
Colina(mg/Kg)	833	--	(-)1111	(-)1111
Niacina (mg/Kg)	16.7	--	--	--
Pantotenato de calcio (mg/Kg)	8.9	--	8.9	11
Riboflavina	2.8	--	4.4	4.4
Vit B ₆ (mg/Kg)	7.8	--	0.67	0.44
Vit B ₁₂ (mg/Kg)	0.0056	--	0.0056	0.0056

(1,6,34)

REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES DEL RATON.

Nutrientes expresados en cantida por Kg de alimento.
Los nutrientes están expresados en base seca.

NUTRIENTE	CRECIMIENTO	GESTACION Y LACTANCIA
Energía Metab. (Mcal/Kg)	4.2	4.2
Proteína total (g)	133	--

REQUERIMIENTOS MINERALES:

Calcio (g)	6.7	--
Fósforo (g)	5.6	--
Manganeso (mg)	22.2	--
Cloruro sódico (g)	5.6	--
Zinc (mg)	55.6	--

Necesidades vitamínicas del ratón:

Vit A (UI)	556	556
Vit D (UI)	167	--
Alfa-tocoferol (mg)	22.2	--
Tiamina (mg)	3.17	5.6
Riboflavina (mg)	4.4	7.8
Vit B ₆ (mg)	1.1	--
Niacina (mg)	11.1	--
Ac. Pantotémico (mg)	9.4	11.3
Colina (g)	0.63-1.27	0.57-1.14
Vit B ₁₂ (ug)	5.6	0.56

(1,6,34)

REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES DEL CONEJO.

Nutrientes expresados en porcentaje o en cantidad por Kg de alimento.
Para la alimentación Ad Libitum de los conejos. Expresado en Base seca.

<u>NUTRIENTE</u>	<u>CRECIMIENTO</u>	<u>MANTENIMIENTO</u>	<u>GESTACION</u>	<u>LACTANCIA</u>
Energía Digest. (Kcal)	2500	2100	2500	2500
TND (%)	65	55	58	70
Fibra Cruda (%)	10-12	14	10-12	10-12
Grasa (%)	2	2	2	2
Proteína Cruda (%)	16	12	15	17

REQUERIMIENTOS DE AMINOACIDOS:

Lisina (%)	0.65	--	--	--
Metionina + Cistina (%)	0.60	--	--	--
Arginina (%)	0.60	--	--	--
Histidina (%)	0.30	--	--	--
Leucina (%)	1.10	--	--	--
Isoleucina (%)	0.60	--	--	--
Tirosina + Fenilalanina (%)	1.10	--	--	--
Treonina (%)	0.60	--	--	--
Triptofano (%)	0.20	--	--	--
Valina (%)	0.70	--	--	--

REQUERIMIENTOS DE LOS NUTRIENTES INORGANICOS:

Calcio (%)	0.40	--	0.45	0.75
Fósforo (%)	0.22	--	0.37	0.50
Cloruro (%)	0.30	0.30	0.30	0.30
Cobre (mg)	3.00	3.00	3.00	3.00
Iodo (mg)	0.20	0.20	0.20	0.20
Manganeso (mg)	8.50	2.50	2.50	2.50
Magnesio (mg)	300-400	300-400	300-400	300-400
Potasio (%)	0.60	0.60	0.60	0.60
Sodio (%)	0.20	0.20	0.20	0.20

Necesidades vitamínicas del conejo:

Vit A (UI)	580	--	+ 1160	--
Vit A como caroteno (mg)	0.83	--	0.83	--
Vit E (mg)	40	--	40	40
Vit K (mg)	--	--	0.20	--
Niacina (mg)	180	--	--	--
Piridoxina (mg)	39	--	--	--
Colina (g)	1.20	--	--	--

Nota: La razón por la que algunos nutrientes no aparezcan en las Tablas responde a que no se conocen sus requerimientos específicos, aún cuando se sabe que son necesarios en la dieta.

Con respecto a los conejos, cuando se quiere aprovechar algún producto de la región en la dieta en forma fresca o para la preparación de dietas balanceadas, es importante tomar en cuenta que los siguientes productos son tóxicos para el conejo:

Laurel	Euforbios
Cerezo	Eléboro
Lino	Jaramago
Ortiga fresca	Yerba loca o "tembladera"
Sorgos verdes	Papa (follaje, tallo, tubérculos crudos)
Paraíso	Granos de ricino
Semillas de mostaza y nabo	Demasiado forraje de soya
Harina de semilla de algodón	Col
Hojas de remolacha y nabo (por su contenido en ác. oxálico)	Acónito
Digital	Setas
Britania	Narciso
Cicuta	Dalias
Hojas de árboles de hoja perenne (a excepción de coníferas)	Hojas de tomate
Carnezuelo de centeno.	Adormideras

Productos venenosos para el conejo:

Anémora	Cólquico
Mercurial	Beleño
Muraje	Ranúnculo
Vellorita	Alamo
Aligustre	Roble
Tejo	Zumaque
Alfombrilla	Cadillo
Yerba lechosa	Telempacate
Senecio	Palmilla
Toloache	Perejil

(*)

(*) Comunicación personal.

Criterios para la selección de la ración óptima (38).

- Algunos de los requerimientos nutricionales dependen de la cepa o raza.
- El tipo de alimento y la ración depende de los objetivos de los experimentos. Por ejemplo: altos niveles de grasa en la dieta pueden producir obesidad y decremento de la longevidad.
- Inadecuada interacción de los componentes de la dieta. Evita el aprovechamiento óptimo de los nutrientes. Por ejemplo: los minerales pueden catalizar la destrucción de ciertas vitaminas, particularmente cuando ambos ingredientes se adicionan a la dieta dentro de la misma premezcla.
- Disponibilidad de los ingredientes. Los ingredientes que integren la ración deben ser disponibles para evitar que tengan que cambiarse durante el desarrollo del experimento.
- Métodos de descontaminación bacteriana. Estos métodos pueden cambiar la concentración de los nutrientes en las raciones, requiriéndose entonces una compensación extra de los mismos.
- Tipo de nutrición. El tipo de alimento utilizado debe ser tan similar, en cuanto a nutrientes y características físicas, como el utilizado en aquellos experimentos que se quieran reproducir.

Contaminación biológica del alimento.

Para evitar la contaminación del alimento de origen biológico (bacterias, esporas, hongos, etc) se utiliza el autoclave como un procedimiento común y práctico. Sin embargo, es importante hacer notar que éste procedimiento altera la disponibilidad de los nutrientes esenciales y puede producir compuestos con actividad antimetabólica, como ya se mencionó anteriormente. Durante éste proceso se pierde un 80% de la tiamina, un 40% de la vit. A, etc.. En la medida en que el procedimiento sea más tardado y las temperaturas más elevadas, más pérdida de nutrientes habrá. Por esta razón, las dietas deben complementarse posteriormente.

Otra desventaja asociada al autoclave es que el alimento en forma de pellet tiende a fundirse y formar grandes masas; para evitarlo o minimizarlo el alimento debe recubrirse con una capa de sílicón. Algunos fabricantes de alimento seleccionan estrictamente solo ingredientes que soporten el proceso.

Otro método de descontaminación del alimento es por radiaciones, como ya se mencionó anteriormente. Existen otros métodos tales como la fumigación con óxido de etileno o las radiaciones pero de tipo ultravioleta, pero su uso es limitado por razones económicas. Además, se ha reportado diátesis hemorrágica en los ratones que consumieron alimento expuesto a el óxido de etileno(38).

Contaminación química del alimento.

Las concentraciones máximas de contaminantes químicos aceptables en el alimento, según el Centro Nacional de Investigación Toxicológica de U.S.A. (38) son las siguientes:

CONTAMINANTE	CONCENTRACION MAXIMA
Arsénico	0.25 ug/g
Aflatoxinas totales (B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂)	1.00 ug/kg
Cadmio	0.05 ug/g
Dieldrin	0.01 ug/g
Compuestos estrogénicos	2.00 ug/kg
Heptaclor	0.01 ug/g
Mercurio	0.05 ug/g
Malatión	0.50 ug/g
Lindano	0.01 ug/g
Plomo	1.00 ug/g
Bifenilos policlorinados	0.50 ug/g
Selenio	0.50 ug/g
Total DDT (DDE, DDT, TDE)	0.05 ug/g

(38).

El origen de éstos contaminantes son básicamente los ingredientes de la dieta y los aparatos utilizados para la fabricación del alimento. Por ello, para detectarlos se recomienda la examinación microbiológica y toxicológica periódica del alimento. Si se detectan contaminaciones inaceptables debe cambiarse de ración. Todo cambio de alimento debe realizarse en forma gradual para no provocar alteraciones digestivas a los animales.

1.3.2 Agua.

Los animales deben tener libre acceso al agua, la cual será siempre potable; nunca helada porque predispone a diarreas. Generalmente el agua se suministra sin límite, a menos de que su ingestión esté restringida por experimentos específicos.

El agua se suministra de tal manera que se minimice su contaminación. Los bebederos deben higienizarse por lo menos una vez a la semana. Se recomiendan sistemas automáticos o combinaciones de botella, tapón y tubo con sistema de balín (*). Estos sistemas de suministro se revisan diariamente para constatar su presión y evitar fugas.

Es recomendable el uso de filtros purificadores ya que mantienen las condiciones higiénicas de los bebederos.

Los requerimientos de agua varían de acuerdo a la especie animal, al clima, al tipo de alimentación y al estado de producción, sin embargo, en promedio son los siguientes:

- a) Ratón: 1.5 ml/10 g de peso corporal.
- b) Rata: 10 ml/100 g de peso corporal.
- c) Conejo: 10 ml/100 g de peso corporal (11,27).

Para escoger comederos y bebederos apropiados se recomienda seguir el siguiente criterio de selección:

- a) Resistencia y duración.
- b) Fácil limpieza, desinfección y esterilización.

(*) De preferencia se seleccionan botellas de cristal porque son más higiénicas, porque no se rayan y, por lo tanto, no conservan residuos; además son fácilmente lavables y pueden esterilizarse.

- c) Capacidad suficiente para cubrir las necesidades de 24 h.
- d) Conservación de las condiciones óptimas del contenido por el mayor tiempo posible.
- e) Fácil abastecimiento.
- f) Mínimo manejo.
- g) De material inócuo.
- h) Fácil acceso del animal al consumo del contenido.
- i) De difícil contaminación por deyecciones.
- j) Ocupación mínima del espacio interior de la jaula.
- k) Mínimo desperdicio del contenido durante su consumo.
- l) Integración sencilla y adecuada al tipo de jaula.
- m) Bajo costo (27).

A continuación se proporcionan los requerimientos de agua de los conejos con base en su estado de producción.

Estado de Producción	Consumo Diario
Conejo en crecimiento	200-350 ml
Conejo adulto	200-300 ml
Coneja en reposo o gestación	300-500 ml
Coneja próxima al parto	500-1000 ml
Coneja con 8 gazapos al principio de la lactancia	600-1250 ml
Coneja con 8 gazapos en plena lactancia	2000-4000 ml

(39).

Tratamientos para la depuración del agua.

Existen varios tratamientos para limitar o eliminar la población bacteriana contenida en el agua; algunos de éstos métodos son: destilación, esterilización por autoclave, hiperclorinación y también la hiperacidificación. Antes de elegir el método de depuración deben evaluarse ventajas, desventajas y los posibles efectos causales o inducidos por cada uno de ellos sobre las respuestas fisiológicas de los animales ente los experimentos específicos. En general, cualquier método que disminuya el consumo de agua debe considerarse detrimental.

I.3.3 Cama.

Además de proveer aislamiento térmico, la cama absorbe deyecciones y derrames de agua. La cama también se utiliza para la construcción de un nido para aquellos animales que sean alojados en jaulas o cajas de fondo sólido (37).

Es importante hacer notar que existen dos tipos básicos de camas: las de "íntimo contacto" (contac bedding) y las que "no están en contacto" (noncontac bedding) con los animales; éstas últimas cuentan con un aditamento especial y se utilizan en cajas y jaulas con fondo cribado. Dado que las camas de "íntimo contacto" son las más utilizadas, las siguientes recomendaciones se referirán a éstas, a menos que se indique lo contrario (37).

La cama debe cambiarse tan seguido como sea necesario para mantener a los animales limpios y secos y así minimizar olores. Para el mantenimiento de roedores pequeños probablemente sea suficiente cambiar la cama tres veces por semana. Para animales

mayores será necesario cambiar diariamente la cama. La evacuación de la cama se realiza de tal manera que se evite al máximo la exposición de los animales y del personal a los aerosoles despedidos. Estos procedimientos se ajustan al tipo de habitación de los animales (19).

Los suplementos alimenticios del tipo de frutas y verduras, si es que se utilizan, pueden ser colocados sobre la cama, pero debe saberse que su porción no comestible se adhiere a la cama dando por resultado que ésta tenga que cambiarse con más frecuencia (37).

Los productos de madera son los materiales utilizados más comúnmente como cama. Estos deberán ser tamizados para eliminar astillas y polvo excesivo, además de estar exentos de todo material extraño, tóxico o adherible tal como pintura, preservativos de madera como barniz y pesticidas. Para prevenir la contaminación la cama se esteriliza antes de utilizarse (19).

La viruta de árboles de madera suave es recomendable como cama. Es frecuente que se mezclen el pino o el cedro con otro tipo de material para cama para que impregnen su olor en el cuarto de alojamiento. Esta práctica no es recomendable por dos razones: a) el pino y el cedro causan alteraciones en el sistema microsomal enzimático hepático de ratas y ratones (*) (27,58), y b) porque los olores inducen a una inadecuada circulación de aire en jaulas y cajas.

Las camas de pino blanco y cedro alteran la acción de las enzimas hepáticas tales como hexobarbital-oxidasa, anilina-hidroxilasa y etil-morfina-N-d emetilasa (51), con lo cual además disminuyen el período de sueño.

El aserrín y el olote molido inhiben la actividad reproductora y al sistema microsomal enzimático, respectivamente.

También pueden ser utilizados como cama productos tales como paja y rastrojo de maíz para diferentes especies animales, incluyendo roedores. Este tipo de material debe introducirse en bolsas de papel para poder esterilizarse por autoclave y así facilitar su manejo (19).

Ahora bien, los ratones prefieren la cama de viruta a la de celulosa. Los alojados en camas de celulosa producen camadas menores, tienen una lactancia menor y destetan menos ratoncitos que los alojados en camas de viruta (51).

Se pueden emplear subproductos de papel para absorber la humedad en cama que "no están en íntimo contacto".

La cama esterilizada se guarda en envases no porosos, impermeables y efectivamente sellados. Durante el cambio de cama las bolsas no se deben introducir a las habitaciones de los animales. Una vez sacada la cama de su envase (bolsa) se almacena en recipientes de metal o plástico herméticos. Estos recipientes deben ser higienizados frecuentemente.

Con respecto a los conejos se utilizan camas de "no íntimo contacto". La viruta se coloca sobre la charola receptora de (*) Asimismo, se han reportado alteraciones del sistema microsomal enzimático por la presencia de detergentes, solventes orgánicos y excesivas cantidades de amonio (50,57,62,65).

dyecciones, y para este fin se suele utilizar viruta de madera, olote picado, pajas, etc..

La incineración es el medio más efectivo de disposición de la cama cuando ya se encuentra sucia.

I.4 MÉTODOS DE IDENTIFICACION Y REGISTROS.

Las prácticas que se llevan a cabo para la producción de animales de alta calidad para la experimentación en laboratorio (como líneas endogámicas, líneas de selección física, reproducción abierta, etc.) requieren de una identificación segura y permanente.

La identificación puede realizarse mediante métodos permanentes, o bien, mediante métodos perecederos o temporales.

Los métodos permanentes de identificación consisten básicamente en el tatuaje, muesqueo, aretado y empulsaje.

1. Tatuaje: los materiales requeridos para el tatuaje son: contenedor, si es conejo (ver capítulo y figura de sujeción), pinzas de tatuaje con números y letras intercambiables, tinta y alcohol. La impresión se realiza sobre la piel de la cara interna de la oreja, previa limpieza para quitar todo exceso de grasa.

2. Muesqueo. Existen varios sistemas y uno de los más utilizados es el de numeración de un dígito en la oreja izquierda y numeración de dos dígitos en la oreja derecha. Este sistema es muy adecuado para ratas y ratones. Las muescas se hacen con una pinza especial. (ver figura 9).

3. Aretaje. Los aretes se utilizan en animales mayores y son muy prácticos. Actualmente se fabrican predominantemente en materiales plásticos.

4. Empulsaje. Los pulsos son un sistema propio para aves, pero están cayendo en desuso. Se fabrican en metal y en plástico.

Los números asignados por el método de identificación específico podrán significar: No. de generación, No. de registro de la madre o del padre, fecha de nacimiento, procedencia o cualquier otra clave preestablecida.

Los métodos de identificación temporal son los que se utilizan para diferenciar a los animales cuando se van a manipular en grandes grupos y cuando las necesidades de manejo y sanidad así lo requieran (aplicación de tratamientos, vacunaciones, obtención de muestras, etc.). Existen varios métodos tales como la aplicación de tintas y pinturas en diferentes zonas del cuerpo pudiendo tener cada una de éstas un valor particularmente aplicado; corte de pelo, etc. (7) (ver fig. 10).

REGISTROS.

Además del método de identificación individual, cada animal debe poseer un expediente o registro en el que se anoten todos los datos y parámetros de producción concernientes a él. Mediante éste instrumento se obtiene información acerca del comportamiento de cada animal y evaluaciones de grupo; eficiencia de sistemas reproductivos, curso y dispersión de enfermedades, rendimiento animal, índices de morbilidad y de mortalidad (de gran

Fig.9. Sistema de identificación apropiado para ratones mediante muesqueo. Permanente.

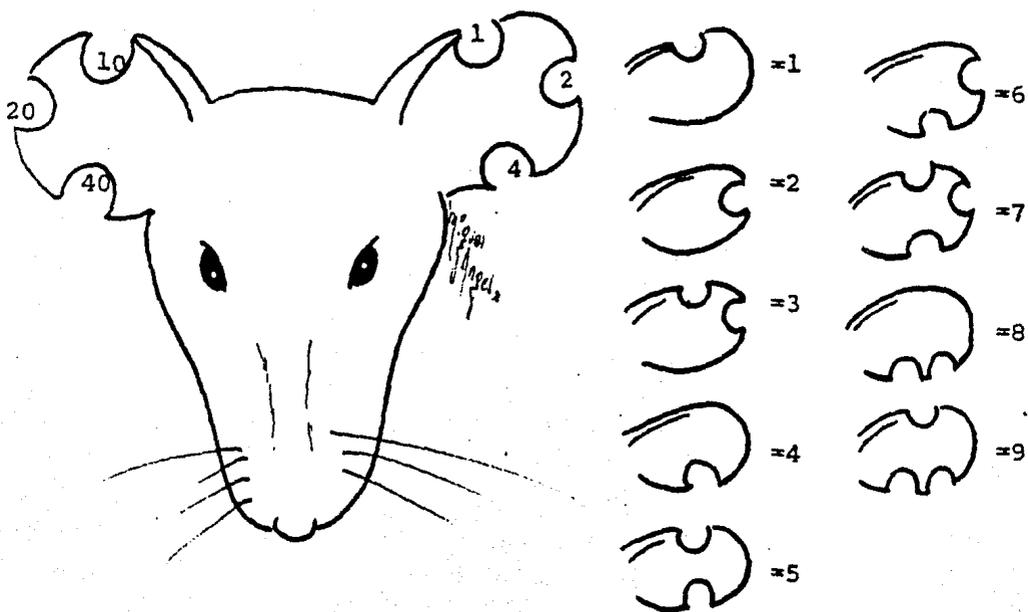
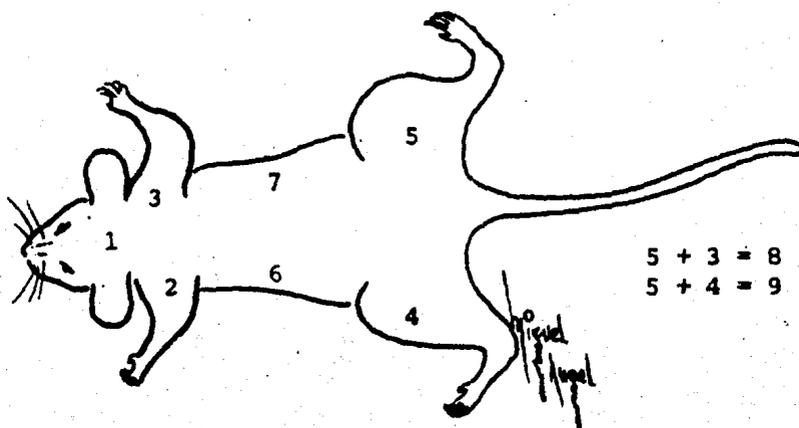


Fig.10. Sistema de identificación temporal mediante la aplicación de pinturas y tintas.



importancia, sobre todo en áreas cuarentenadas para evaluar la efectividad de los procedimientos terapéuticos de cuarentenamiento).

Los expedientes o registros pueden ser individuales, o bien, colectivos. Los registros también podrán incluir tarjetas para habitaciones, para anaqueles y para jaulas, en donde se podrán hacer las anotaciones que se juzguen pertinentes.

A continuación se proporcionan ejemplos de registros.

Registro para hembras:

Hembra No. _____		Fecha Nac. _____		Raza _____				
Padre _____		Madre _____		Camada No. _____				
Alimento fecha/Kg	Fecha servicio	Macho No.	Fecha parto	Camada No.	nacidos		Fecha destete	No. dest.
					vivos	murtos elim.		

Otro Registro para hembra:

MONTA		GESTACION			PARTO	LACTANCIA			DESTETE					
Fecha	Peso	No.	Diagnóstico		Fecha	Nacidos			Camada	Fecha	Peso	Destetados		
	Q	O'	Fecha	Resul.		V	M	E	No.		Q	Q	O'	Peso

Registro para machos:

Macho No. _____		Fecha Nac. _____		Raza _____			
Padre No. _____		Madre No. _____		Camada No. _____			
Fecha servicio	Hembra No.	Nacidos			Peso al destete		Observaciones
		vivos	murtos	elim.	Total kg	kg X	

Registro para camadas:

Camada número	Jaula número	No. del padre	No. de la madre	Fecha nacimien.	Destete			Observaciones
					Fecha	No.	Peso	

Registro de introducción o de adquisición de nuevos animales.

Identificación de la institución _____
 Identificación del animal _____
 Fecha y edad de introducción _____
 Nombre de la institución _____
 No. individual _____
 Sexo _____
 Fecha de introducción _____
 día/mes/año/época _____
 Edad de introducción _____
 años/meses _____
 Método utilizado para la estimación de la edad _____
 Origen del animal _____
 Nacido en la institución _____
 Nacido salvaje o silvestre _____
 De origen desconocido _____
 Lugar de origen (en caso de animales salvajes o silvestres) _____
 Área geográfica _____
 Animales transferidos de otras instituciones _____
 Nombre de la institución _____
 Identificación individual previa del animal _____
 Identificación de los padres _____
 Identificación del padre _____
 Identificación de la madre _____
 Observaciones _____

Registro de apareamiento:

Identificación de la institución _____ Nombre de la institución _____
Identificación de la hembra _____ Hembra No. _____
Estado reproductivo _____ Preñez _____
Vacía (No preñez) _____
Etapa propicia para apareamiento _____
Determinación del estado de preñez _____ Palpación _____
Prueba química _____
Radiografía _____
Laparatomía (quirúrgico) _____
Otros (visual) _____
Fechas _____ Fecha de determinación de la preñez _____
Tipo de apareamiento _____ Conjunto de hembras y machos agrupados _____
Harem _____
Por parejas _____
Otro (inseminación artificial) _____
Identificación del macho _____ Números de identificación de los machos (apareamiento en grupo) _____
No. individual del macho _____

Observaciones: _____

(56)

Registro para dietar:

Identificación de la institución _____ Nombre de la institución _____
Identificación del animal _____ No. de identificación _____
Fechas _____ Fecha de inicio de la dieta _____
Fecha de suspensión de la dieta _____
Identificación de la dieta _____ Tipo de dieta _____
Suplementos alimenticios _____
Descripción de dietas especiales _____

Observaciones: _____

(56)

Registro de pruebas de laboratorio y tratamientos clínicos.

Identificación de la institución	Nombre de la institución _____
Identificación del animal	No. de identificación individual _____
Causas del estudio de laboratorio y muestreo	Motivo del examen de laboratorio _____
	Observaciones _____
	Tipo de muestra requerida _____
	Observaciones _____
	Fecha de colección de la muestra _____
	Fecha de análisis de la muestra _____
Identificación del laboratorio	Nombre del laboratorio _____
	Método de análisis _____
	Observaciones _____
Resultado de las pruebas:	
Parasitología	Identificación del parásito _____
	Observaciones _____
Microbiología	Virología _____
	Bacteriología _____
	Observaciones _____
Bioquímica	Nombre de la prueba _____
	Resultado de la prueba (unidades específicas) _____
	Observaciones _____
Tratamiento	_____

FECHA	_____

(56)

Registro para medicaciones:

Identificación de la institución	Nombre de la institución _____
Identificación del animal	No. de identificación individual _____
Fecha de medicación	Día/mes/año/época _____
Medicación	Fármaco _____
	Dosis _____
	Vía de administración _____
	Frecuencia del tratamiento _____
	Duración del tratamiento _____

Efectos colaterales _____

Médico Veterinario Responsable _____

(56)

I.5 PRECAUCIONES ANTE EMERGENCIAS.

Deben considerarse las precauciones y medidas necesarias - destinadas al cuidado de los animales ante situaciones de emergencia. El personal de seguridad de la institución, oficiales de policía y bomberos deberán conocer muy bien a las personas directamente responsables de los animales. Esto podría facilitarse si se colocan anuncios o letreros prominentes en donde se asienten los nombres de las personas responsables y de la sección a su cargo, o teniendo éstos mismos datos en el departamento central o en el centro de seguridad de la institución. El objetivo es asegurar que los animales contarán con el cuidado debido en casos de emergencia.

Sobra decir que los mecanismos de seguridad establecidos en cada sección y departamento de la institución deben revisarse periódicamente con el propósito de corroborar su funcionalidad y vigencia.

Estas precauciones igualmente se observarán durante los - fines de semana y períodos de vacaciones. (19).

II. SALUD Y CALIDAD DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO.

II. 1. CUIDADOS VETERINARIOS.

Los cuidados veterinarios deben ser impartidos por Médicos Veterinarios altamente capacitados para ello. Las actividades básicas por parte del veterinario serán:

- a) Constante observación de los animales para verificar la - salud de cada uno de ellos.
- b) El establecimiento de programas de crianza y cruzamiento.
- c) La prestación de un servicio médico adecuado para aquellos animales que se detecten enfermos o lastimados.
- d) El diseño de métodos apropiados para la eutanasia, en caso de ser necesaria.
- e) El establecimiento de programas higiénico-sanitarios.
- f) El establecimiento de un reglamento para el manejo adecuado y humanitario para lograr el aprovechamiento óptimo y racional de los animales (19).

II.1.1 Cuarentena y aislamiento de los animales.

Con el objeto de tener un control adecuado de la salud de - los animales, se deben tomar ciertas medidas que prevalescan como rutina, siendo de las más importantes la cuarentena y el aislamiento.

Cuarentena. Es la observación en forma aislada de los animales recién adquiridos con el propósito de evaluar su estado de salud. Esta evaluación se realiza bajo un procedimiento médico estricto y bien establecido. El período de observación durará por lo menos tres semanas, y se llevará a cabo en áreas separadas, de ser - posible, en diferentes edificios a aquél en el que estén alojados - los demás animales. (21). Cuando los animales obtenidos provengan

de un productor digno de confianza, la cuarentena se puede limitar, sobre todo si se conocen las condiciones ambientales de su producción; en caso contrario, la cuarentena se prolongará tanto tiempo como sea necesario (19).

Durante este período se llevarán a cabo algunos tratamientos parasiticidas, aunque los animales aparentemente no se encuentren infestados; también se efectuarán exámenes coproparasitológicos y análisis de orina. Por simple observación se detectan conductas anormales e indeseables.

Si los animales mueren durante la cuarentena deben realizarse las necropsias correspondientes y los exámenes de laboratorio pertinentes para llegar a un diagnóstico preciso de la causa de la muerte y así poder tomar las precauciones convenientes.

El personal asignado a las áreas de cuarentena no podrán trabajar en otras áreas de animales y viceversa, y si los recursos humanos son limitados, todas las labores requeridas para las áreas de cuarentena se harán después de que se haya terminado el trabajo en las áreas limpias, evitando el intercambio de ropa y equipo de una área a otra.

El área de cuarentenamiento será restringida y por ningún motivo se permitirá el acceso a visitantes, sino únicamente a personal técnico y veterinario.

Del área de cuarentenamiento no se sacará ningún material, excepto para higienización e incineración. Se recomienda que ésta área cuente con una sala de necropsias para realizar ahí mismo todos los procedimientos post mortem necesarios y así evitar contaminaciones a otras áreas.

Aislamiento. Es la separación de los animales que porten alguna (s) enfermedad (es) o que sean sospechosos de portarla (s); o de aquellos animales que se sospeche de que sean vectores de infecciones, apartándolos de los animales sanos. (19).

Cuando se presente algún caso de enfermedad, es imprescindible el aislamiento del o los animales afectados en áreas específicas para ello. Jamás se utilicen para tales fines las áreas de cuarentenamiento. Las áreas de aislamiento deben localizarse de preferencia en un edificio diferente a aquél que alberga a los demás animales.

Lo más recomendable es aislar a toda la población de la habitación en donde apareció la enfermedad, teniendo la premisa de que "todas las enfermedades son contagiosas hasta que no se demuestre lo contrario", para no caer en prácticas de excepciones que conduzcan a consecuencias costosas que pueden consistir en errores de diagnóstico, o de apreciación de la magnitud de los problemas, y que finalmente provoque la pérdida de los animales valiosos.

Cuando los animales sobrevivan al tratamiento adecuado durante el aislamiento, no se les reincorporará inmediatamente a la investigación o experimento en el que estaban involucrados, ya que el tratamiento al que fueron sometidos constituye una variable con respecto al resto de la población utilizada, y puede influir positiva o negativamente en los resultados esperados; por

ello se quedarán en un "grupo de espera" hasta que se hayan eliminado absolutamente todos los antibióticos y quimioterapéuticos utilizados.

Si la población afectada corresponde a una colonia de reproductores, se evalúan todos los pros y los contras sobre su reutilización analizando las posibles repercusiones inmunológicas, patológicas y teratológicas causadas por la enfermedad o por las drogas utilizadas.

El período de aislamiento dependerá de la enfermedad que se presente, de las pruebas de diagnóstico, del curso de la enfermedad, de la patogenia, de superperíodo de latencia, etc..

Cuando el objetivo es la producción de animales libres de patógenos, libres de patógenos específicos o gnotobióticos (ver Clasificación microbiológica, subcapítulo II.2.2, pág. 56), no es recomendable el tratamiento, sino el desecho. Si el problema no es muy grave, o bien, si las pérdidas son cuantiosas, se puede intentar el tratamiento, pero contando con sistemas antiinfecciosos seguros como el denominado Sistema de Barreras que más adelante se explicará.

II.1.2 Prevención, diagnóstico, tratamiento y control de las enfermedades de los animales de laboratorio.

Toda enfermedad deprime el rendimiento de los animales de laboratorio, y con ello puede echar por tierra casi cualquier trabajo de investigación con la consecuente pérdida de tiempo y recursos valiosos, por lo que deben tomarse las medidas tendientes a prevenir y a eliminar oportunamente las enfermedades.

Para tales efectos se pueden seguir dos caminos: iniciar la explotación con una colonia de animales completamente limpia y mantenerla en dichas condiciones mediante estrictos programas de control, o iniciar con una colonia abierta y conducirla hasta el estado de salud conveniente. Cualquiera de ambos métodos requiere de un ambiente limpio, con barreras periféricas de seguridad (aun que es ingenuo pensar en una impenetrabilidad absoluta).

Aunque la política normal de todo bioterio es NO DAR TRATAMIENTO A LOS ANIMALES ENFERMOS, algunas veces será necesario hacerlo debido al valor del experimento; son casos excepcionales pero desgraciadamente no raros. En caso de dar tratamiento, éste deberá ser supervisado por el investigador para evitar sinergismos o antagonismos entre las drogas utilizadas y los procedimientos clave del experimento.

Dentro de éste aspecto lo más recomendable son las medidas profilácticas del manejo de la colonia que consiste en un MONITOREO de la salud de los animales (Programa de Control de Calidad), el cual está constituido por varios aspectos:

1. Monitoreo del Medio Ambiente: consiste en la realización de exámenes periódicos para determinar la calidad de los métodos de desinfección y esterilización de los implementos utilizados en el alojamiento de los animales, como ya se hizo notar en capítulos anteriores. Un contaminante frecuente en jaulas, botellas y equipo es

Pseudomona spp (gram (-)). El detectar la presencia de gérmenes gram (-) es motivo suficiente para repetir el lavado de todo el material y equipo; debe detectarse la falla en el proceso para enmendarla (38).

Debe monitorearse también la eficacia de los métodos de esterilización de alimento y cama, así como el método de depuración del agua.

2. Monitoreo de los animales. Consiste en hacer un muestreo representativo al azar de los animales de la colonia, y hacer cultivos e identificación de los gérmenes encontrados. En este aspecto las actividades más comunes son: obtención de exudado nasal y faríngeo por medio de isopos estériles; exámenes coproparasitológicos para la detección de patógenos, especialmente Salmonella spp y Pseudomona aureoginosa; obtención de sangre para determinar niveles de anticuerpos y otras pruebas inmunológicas; etc..

Al fallar las barreras profilácticas los gérmenes más comúnmente hallados son: el virus de la neumonía del ratón, virus Sendai, virus de la sialodacrioadenitis de las ratas, Pasteurella pneumotropica, Klebsiella pneumoniae, Mycoplasma spp. Una vez detectada la presencia de microorganismos, personal profesional debe evaluar si es posible controlar la infección y continuar la experimentación. La detección de agentes como el virus de la ectromelia, o el virus de la coriomeningitis linfocitaria significan la pérdida del experimento (38).

3. Monitoreo Patológico. Consiste en la realización de la necropsia completa de animales muertos durante la experimentación y de animales elegidos al azar; también incluye exámenes de laboratorio estrictos. Los animales elegidos al azar y necropsiados permiten la detección de enfermedades subclínicas.

4. Monitoreo Epidemiológico. Las curvas de morbilidad y mortalidad estacionales y anuales, así como las gráficas referentes al manejo del microambiente (temperatura, humedad, ruido, etc.) son herramientas útiles para establecer una relación epidemiológica de la enfermedad presentada. Un ejemplo común de la influencia de éstos factores de manejo lo constituyen la ruptura de la rutina semanal de limpieza durante el fin de semana, por lo que la no vigilancia de termostatos, la variación en la concentración de amoníaco, la inadecuada disponibilidad de agua y alimento, influyen negativamente sobre la salud de los animales.

5. Monitoreo Demográfico. Este aspecto se cubre con la observación de estadísticas vitales que ilustren la condición de la colonia. El uso de registros de apareamiento, de nacimientos, de tasas de crecimiento, de muertes, de desechos, etc. en forma de histogramas o de tablas proporciona una visión conjunta de la actuación en general de la colonia.

II.1.2.1 Principales enfermedades de la rata, el ratón y el conejo. A. RATA.

● Enfermedad Crónica Respiratoria. Es la enfermedad más común de las ratas. Caracterizada por tos, estornudo y estertores. Hay exudado sanguinolento alrededor de la nariz. Los signos son más acentuados

en épocas de frío o en alojamientos mal ventilados. La enfermedad puede afectar al oído medio provocando pérdida del equilibrio. (la rata camina en círculos con la cabeza torcida). Puede tornarse aguda ante situaciones angustiantes para los animales y por la misma razón incrementarse la mortalidad que en general es baja. No tiene tratamiento. Es una enfermedad que se trata de erradicar mediante la utilización de ratas SPF (ver Clasificación Microbiológica).

A ésta enfermedad también se le denomina mycoplasmosis murina.

- Neumonía bacteriana por Pneumococcus tipo II.
- Salmonellosis.
- Coccidiosis y otros protozoarios no son comunes si hay un buen manejo.
- Hongos: no son frecuentes. (3,33).

B. RATON.

● Enfermedad de Tyzzer. Afecta principalmente a ratones pero también ataca a conejos, ratas, gerbils, gatos y monos. Caracterizada por pérdida de peso, disminución de la condición, diarrea e incoordinación muscular. Lesiones: hepatitis con focos necróticos, alteraciones intestinales.

● Artritis por Streptococcus moniliformis principalmente, aunque también suele asociarse el Mycoplasma.

● Diarrea infantil del ratón. Atribuida a dos virus: uno de ellos causa alta mortalidad y el otro, baja mortalidad, pero ambos provocan una altísima morbilidad. La enfermedad se caracteriza por una diarrea amarillenta profusa típica. Lesiones: los intestinos están muy irritados y presentan una coloración que oscila entre amarillo y naranja. El control de la enfermedad es muy difícil. ZOOZONOSIS.

● Ectromelia: causada por un pox virus. Enfermedad aguda sin signos clínicos específicos. La vacunación es efectiva pero los animales quedan como portadores.

● Coriomeningitis linfocítica. Enfermedad causada por el virus de Theilers. ZONOSIS.

● Salmonellosis.

● Coccidiosis y otros protozoarios no son comunes si hay un buen manejo.

● Hongos: no son frecuentes (3,33).

C. CONEJO.

● Infecciones respiratorias son muy comunes, aunque causantes de baja mortalidad. Los principales agentes infecciosos son Pasteurella lepticaptica y Bordetella bronchiseptica. Los signos clínicos son estornudo, estertores, exudado nasal, etc.; puede progresar a neumonía. Generalmente hay otitis media. El tratamiento consiste en antibióticos de amplio espectro y sulfas.

● Sífilis del conejo. Causado por el Treponema cuniculi. El tratamiento consiste en penicilinas o sulfas.

● Myxomatosis. De origen viral. Caracterizada por irritación de los párpados, aunque también puede afectar nariz, labios y genitales. La vacuna es efectiva, aunque la inmunidad es muy corta.

● Hongos: son poco frecuentes.

● Coccidiosis: es una enfermedad mucho muy frecuente en los conejos. Existen dos tipos de coccidias principales que afectan a los conejos: la hepática = Eimeria stiedae, y la intestinal = Eimeria per-

formans. Es una enfermedad de difícil erradicación, pero la higiene adecuada y el uso de coccidiostatos (solo cuando se necesiten) permiten su control.

● **Enteritis Mucoide.** Enfermedad que afecta principalmente a los jóvenes, de etiología desconocida, aunque tal vez se deba a una deficiencia enzimática para la digestión de los carbohidratos. Se puede asociar a la coccidiosis intestinal. (3,33,48).

II.1.3 Anestesia y Eutanasia.

II.1.3.1 Anestesia.

A. RATA.

● **Pentobarbital sódico** por vía intraperitoneal (IP):

10-30 mg/kg en ratas jóvenes.

30-50 mg/kg en ratas viejas.

● **Ketamina HCl:** 10-60 mg/kg; produce miorelajación muy pobre. Vía IM.

● **Ketamina:** 60 mg/kg, más **Pentobarbital sódico (IP):** 20 mg/kg.

● **Fentanilo-Droperidol (IM):** 0.02 mg/100 g de peso corporal.

● **Eter, halotane y metoxyfluorane** también se pueden utilizar. Es muy común la técnica de insuflación endotraqueal y utilizando éter.

● Para intervenciones cortas se recomienda la anestesia con éter, alojando al animal debajo de una campana junto con una torunda o gasa impregnada; a efecto. Para prevenir el exceso de formación de moco en el tracto respiratorio puede administrarse previamente atropina.

Nota: Las ratas alojadas en cama de cedro reducen el período de anestesia producido por barbitúricos (16,31).

B. RATON.

● **Pentobarbital sódico (IP):** 60-90 mg/kg de peso corporal; aplicar con jeringa de tuberculina y aguja No. 24. El ratón tiene una respuesta variada ante el pentobarbital y puede ocurrir hasta un 20% de mortalidad. Para tener un mayor margen de seguridad y así disminuir los riesgos de mortalidad se recomienda utilizar la combinación: **Clorpromazina (IM):** 50 mg/kg más **pentobarbital sódico (IP):** 50 mg/kg.

● **Ketamina:** 44 mg/kg de peso corporal (de efectividad cuestionable).

● También pueden utilizarse éter, halotane y metoxyfluorane, dosificación a efecto. Particularmente el éter causa salivación profusa) - (31,32).

C. CONEJO.

● **Fentanilo-Droperidol (IM):** 0.22 mg/Kg de peso corporal (previamente suministrar atropina (SC) a dosis de 0.04 mg/Kg).

● **Ketamina (IM):** 25.1 mg/kg, dando **pentobarbital (20 mg/kg)** 39 minutos antes.

● **Xylazina (IM):** 9 mg/kg, dando **Ketamina (IM, 40-50 mg/kg)** preferentemente 10 minutos antes.

● **Anestésicos inhalados** como metoxyfluorane y halotane.

● **Eter.** Se puede utilizar éter como anestésico, pero no como inductor de la anestesia ya que muy frecuentemente provoca en los conejos laringoespasmo.

● **Sulfato de magnesio.** Se utiliza en solución al 20%: 5 ml/kg de peso corporal. Vías subcutánea, intramuscular o intravenosa.

● Tiopental: 50 mg/kg. (16,31,61).

Es importante mencionar que la rata, el conejo y el gato pueden destruir grandes cantidades de atropina debido a que poseen en el hígado la enzima atropina-esterasa (31).

II.1.3.2 Eutanasia.

Durante el trabajo con los animales de laboratorio existen situaciones que ameritan el sacrificio de los mismos. Las razones principales de éste sacrificio son:

- a) Daño severo y prolongado durante la experimentación.
- b) Colección de tejidos u órganos para su estudio posterior.
- c) Parte integral de la experimentación (seguimiento de la patogenia de enfermedades, por ejemplo) (19,55).

La eutanasia se puede definir como "la provocación de la muerte de los animales sin sufrimiento, a través de agentes o instrumentos adecuados".

La eutanasia debe ser aplicada por personal capacitado. El método seleccionado depende de la especie animal considerada y del experimento para el cual fue utilizado el animal. El método de eutanasia no deberá interferir los exámenes postmortem requeridos por la técnica de investigación. (19).

Los métodos de eutanasia pueden ser de tipo físico o de tipo químico. Los métodos físicos son: dislocación, decapitación y golpe en la base del craneo. Los métodos químicos son: sobredosis de anestésicos, uso de gases tóxicos como el dióxido de carbono y el monóxido de carbono.

Los métodos físicos son muy efectivos si se hacen con habilidad y destreza. El método más frecuentemente utilizado en ratas y ratones es el de dislocación. En conejos se practica más el golpe en la base del craneo (ver figuras 11,12).

Los métodos químicos son básicamente similares a las técnicas de anestesia, y por ello se utiliza el mismo equipo. Agentes volátiles y no volátiles son igualmente efectivos. El éter y el cloroformo son también efectivos pero su manejo es peligroso: el éter es inflamable y explosivo, y el cloroformo es muy tóxico y puede ser carcinogénico. Si los animales son sacrificados con éter, se requieren instalaciones especiales para almacenar y eliminar los cadáveres ya que pueden ocurrir explosiones. Signos que indique la presencia ambiental de éstos agentes deberán ser cuidadosamente comprobados (19, 31,55).

II.1.4 Separación de los animales por especie y por procedencia.

Generalmente los bioterios manejan varias especies animales debido a que no pueden utilizarse todas las especies como modelos experimentales múltiples. Esto fuerza a la administración del bioterio a tener que contar con ratas, ratones, conejos, hamsters, gerbils, perros, gatos, y muchas otras especies.

Existen enfermedades comunes a varias especies y ésta es la causa principal de que deban separarse, o bien, existen agentes in

Fig.11. Eutanasia en el conejo mediante el desnucamiento.

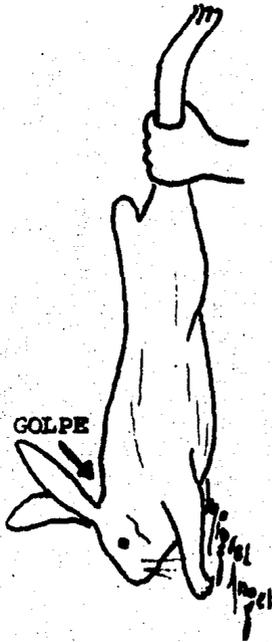
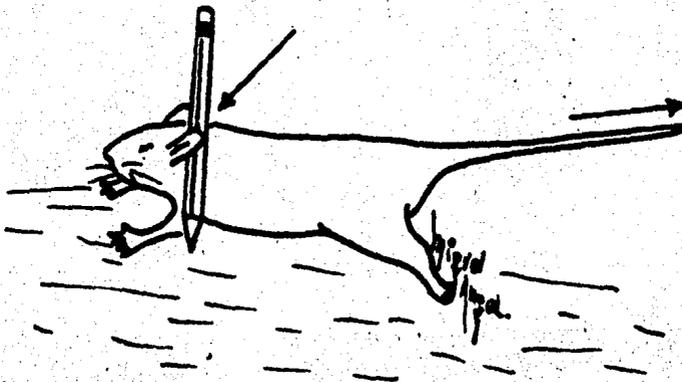


Fig.12. Eutanasia en el ratón por dislocación cervical.



fecciosos que son inócuos y patológicos para otra. Otra causa de separación son las diferentes prácticas de manejo y de seguridad específicas de especie. Ahora bien, las características propias de comportamiento constituyen una causa más de separación, no tan aparente pero no por ello menos importante. Por ejemplo: las ratas estarían continuamente bajo un estado de angustia si permanecieran escuchando ladridos de perros, o el cerbil, que es un animal que bajo estímulos bruscos de ruido o manejo se convulsiona muy fácilmente.

El mejor método para separar a los animales es el contar con alojamientos específicos de especie, así como habitaciones también específicas (19).

Entre las enfermedades comunes se encuentran la encefalitozoonosis que se ha detectado en conejo, rata y ratón; el síndrome respiratorio por el complejo Streptococcus Pasteurella del conejo y el cuyo; la tuberculosis de mono, cuyo y hamster; la neumonía estafilocócica del cuyo, conejo y mono; la neumonía klebsiellósica del cuyo y el mono; la bordetellosis del conejo; etc..

Nota: El Streptobacillus moniliformis es un agente infeccioso que se aloja en la nasofaringe de las ratas, en las que es inócuo, pero ha causado septicemia fatal en ratones cuando éstos han sido alojados en el mismo cuarto con ratas.

Además de la separación por especie se recomienda, dentro de la misma especie, separar a los animales de acuerdo a su procedencia; esto se lleva a cabo cuando el bioterio cuenta con animales en dogámicos o en condiciones de colonia cerrada, con el objeto de evitar confusiones humanas y mantener un control de calidad de las líneas.

Desde el punto de vista epidemiológico existen líneas de animales portadoras características de enzootias y algunas libres de ellas, por lo que se requiere algunas veces la separación inclusive durante la cuarentena.

Las proporciones de utilización de los animales de laboratorio varían de bioterio a bioterio dependiendo de múltiples factores. Lane Petter y Pearson (27) encontraron una distribución promedio de la siguiente forma en los laboratorios ingleses:

Ratones	69.6 %
Ratas	13.3 %
Cuyos	7.7 %
Aves	4.1 %
Conejos	1.5 %
Otros vert.	3.8 %

II.2 GENÉTICA.

La constitución genética es uno de los elementos más importantes a considerar para la selección de los modelos animales utilizados en la investigación biomédica. Es muy común que se fracase al intentar reproducir los experimentos reportados por otros investigadores debido a que aunque se utilicen animales de la misma

raza y cepa difieren en cuanto a su origen. El problema estriba básicamente en que existen factores que pueden provocar cambios en las características genotípicas debido a que animales de la misma raza y cepa son sometidos a diferentes condiciones ambientales de alojamiento durante varias generaciones. Algunas veces los cambios genotípicos se traducen en diferencias fenotípicas (en cambios de color, por ejemplo), pero no siempre, y entonces las variaciones son menos perceptibles pero de importancia trascendental (diferencias en cuanto a longevidad, predisposición o resistencia a enfermedades, alteración ante estímulos inmunes, etc.). Para prevenir éste tipo de situaciones es necesario un programa de monitoreo genético, aunado a los otros métodos de monitoreo descritos anteriormente. (15,38).

Por lo anteriormente expuesto es importante hacer notar que dentro de todo resultado de investigación publicado, el investigador tiene la obligación ética de reportar siempre el origen de la colonia animal, la cepa y la línea, así como describir el estado microbiológico de los animales (38).

Las características genéticas deseables e indeseables pueden ser manipuladas o controladas mediante apropiados sistemas de cruzamiento. Existen diferentes sistemas de apareamiento con el propósito de producir razas o cepas consanguíneas, no consanguíneas y con características congénitas específicas.

II.2.1 Características de grupos genéticos y sistemas de cruzamiento.

Cepas No Consanguíneas.

Son animales mantenidos mediante un sistema de cruzamiento que tiende a minimizar la consanguinidad, y por lo tanto, a maximizar la variabilidad genética. El sistema de cruzamiento se denomina **OUTBREEDING** y consiste en el apareamiento al azar entre animales de la misma raza; debe mantenerse menos del 1 % de consanguinidad. Esto se puede lograr manejando tablas de probabilidad.

Inevitablemente se presenta una pequeña cantidad de consanguinidad cuando se cierra la introducción de nuevas colonias de cría durante un número considerable de generaciones. Por ello, la historia genética de los animales no consanguíneos debe incluir:

- a) Fecha de introducción de nuevas colonias de cría.
- b) Tamaño de la colonia de cría.
- c) Sistema utilizado para disminuir la consanguinidad.
- d) Estimación del coeficiente de consanguinidad por colonia.

Cepas Consanguíneas.

Las cepas consanguíneas son grupos de animales que se han cruzado entre hermanos durante veinte generaciones o su equivalente (36). El apareamiento de este tipo se denomina **INBREEDING**, y su propósito es reducir la variabilidad genética y así aumentar la homogeneidad (homocigosis) (38).

Mediante éste sistema de cruzamiento es posible la obtención

de cepas o líneas, las cuales resultan cuando una raza (*) en proceso de intercrucamiento (cruzamiento entre hermanos) se separa después de 8 a 19 generaciones manteniendo éste tipo de apareamiento, y a partir de éste momento se mantienen como colonias separadas - por otras 12 o más generaciones (54). Cuando la separación ocurre a las 8 generaciones, o tal vez un poco más, las instituciones que adquieren éstos lotes de animales continúan cruzándolos bajo un sistema consanguíneo, la variante de la raza se denomina ahora sublínea o subcepa. Por lo tanto, podríamos decir que éstas sublíneas o subcepas son subgrupos de líneas o cepas que se han sometido a condiciones ambientales diferentes y que no ha habido intercrucamiento a nivel de éstos grupos durante 12 o más generaciones (38).

La variación genética entre una cepa consanguínea es mínima. En general, la consanguinidad disminuye la capacidad reproductiva y tiende a acortar el período de vida esperado. El proceso de consanguinidad a menudo descubre anomalías genéticas que muy difícilmente aparecen en líneas no consanguíneas (14).

Para mantener la homocigosis de las cepas consanguíneas, el criador debe limitar los apareamientos dentro de pequeñas familias para que así todos los apareados tengan ancestros en común (máximo 3 o 4 generaciones).

El CROSSBREEDING es otro sistema de apareamiento que permite la obtención de animales HIBRIDOS. Se denominan híbridos a los animales obtenidos a partir del cruzamiento entre dos cepas diferentes pero que sean de tipo consanguíneo. Los híbridos pueden ser de dos tipos:

- a) Cruza Única: obtenidos por el apareamiento único entre dos cepas consanguíneas. Aunque los animales híbridos de cruce único son muy parecidos genéticamente a sus progenitores, por lo general tienen mayor capacidad de adaptación ante diferentes medios ambientes que las cepas de origen. Esta mayor capacidad se denomina Vigor Híbrido.
- b) Doble Cruza: son animales que se obtienen mediante el apareamiento entre dos híbridos de cruce único. El híbrido doble cruce tiene una base genética mas amplia que el de cruce única (38).

Cepas Congénicas.

Son obtenidas al ocurrir una mutación favorable dentro de un sistema de apareamiento consanguíneo, y posteriormente éstas características se conservan cruzando a los animales mutantes con cepas consanguíneas. Un ejemplo podría ser la cepa de ratones desnuda - $C_3H/HeN-hr$ producida por el cruzamiento repetido de animales homocigóticos (hr/hr) para el gen mutante recesivo "desnudo" en el ratón a partir de la cepa C_3H/HeN . Los ratones de la cepa $C_3H/HeN-hr$ son genéticamente idénticos a los de la cepa C_3H/HeN excepto en el locus hr . Green (13) hizo un bosquejo de los métodos de introducción de mutantes dentro de cruzamientos consanguíneos.

La caracterización genética para un mejor control de las cepas consanguíneas deberá incluir:

- a) Función reproductiva.
- b) Período de vida esperado.

(*) Nota: Raza: es el conjunto de individuos que se diferencian de otros grupos de la misma especie en que poseen características morfológicas propias transmitidas por herencia.

c) Tipo y frecuencia de anomalías observadas.

d) Características específicas.

e) No. de animales que integran el pié de cría de la colonia.

El **SELECTIVE BREEDING** o apareamiento selectivo consiste en el cruzamiento de animales no consanguíneos, debido a que presentan características deseables y que se espera "se fijen" en las generaciones posteriores.

Para la obtención de mayor información con respecto a los sistemas de cruzamiento consultar a Green (13), ICLA Bulletin No. 30 (20), Klein (23) y Poiley (45) los cuales los comentan de una manera muy amplia.

II.2.2 Calidad de los animales de laboratorio.

Clasificación de los animales de laboratorio con base en su estado microbiológico (38).

ANIMAL AXENICO: animal obtenido por cesárea, amamantado y criado bajo condiciones asépticas; demostrablemente libres de toda forma de vida asociada.

ANIMAL GNOTOBIOTICO: animal previamente axénico pero que ahora presenta en forma extra una forma de vida adquirida por adición completamente conocida. La forma de vida asociada debe ser "en poca cantidad" y no patógena.

ANIMAL DEFINIDO, MICROBIOLOGICAMENTE ASOCIADO: animal previamente axénico que se ha asociado intencionalmente con uno o más microorganismos. Los microorganismos generalmente utilizados para éstos propósitos son: dos cepas de lactobacilos, dos cepas de bacteroides, un estreptococo anaerobio del grupo N y una cepa de *E. coli* fermentadora de lactosa. Existe cierta controversia con respecto a la utilización de la cepa de *E. coli*, y muchos investigadores prefieren no incluirla.

ANIMAL MANTENIDO EN BARRERA: animal definido, microbiológicamente asociado que se ha colocado bajo un sistema de barreras. Estos animales son utilizados repetidamente para monitorear tanto la presencia de microorganismos administrados deliberadamente, así como los adquiridos accidentalmente.

ANIMAL LIBRE DE PATOGENOS ESPECIFICOS (SPF): como su nombre lo indica es un animal que está libre de vida patógena específica asociada, y ésta condición se asegura mediante la aplicación de pruebas microbiológicas específicas para los microorganismos o gérmenes considerados.

ANIMAL CONVENCIONAL: animal con carga microbiana desconocida y no controlada. Generalmente criados bajo condiciones de cuartos "abiertos" (sin barreras).

Esta terminología utilizada para definir la calidad microbiológica de los animales de laboratorio es esencialmente la adoptada por los gnotobiotas.

Nota: La clasificación microbiológica de los hamsters difiere un poco de la anteriormente descrita debido a que éstos no han podido ser obtenidos por histerotomía en forma satisfactoria.

II.3 FACTORES AMBIENTALES QUE AFECTAN A LOS ANIMALES DE LABORATORIO.

Un manejo adecuado de los animales de laboratorio incluye también el considerar a los factores ambientales a los que éstos están expuestos, su posible repercusión con respecto a su bienestar y sobre sus respuestas biológicas dentro de la experimentación. Los factores ambientales que modifican las respuestas biológicas más comúnmente son: exposición a sustancias químicas y drogas, métodos de manejo, densidad de población, tipo de alojamiento, ruido, fotoperíodo, temperatura, humedad y ventilación. (29).

El uso constante de insecticidas, aún a bajas concentraciones, como ya se mencionó, puede inducir o inhibir al sistema microsomal enzimático, así como ciertas sustancias químicas utilizadas como ingredientes de desinfectantes y aromatizantes (ver "Control de vermes y del mal olor").

El alimento puede ser fuente de contaminantes químicos. Por ejemplo, el uso de pesticidas en los sembradíos y el de conservadores en los alimentos comerciales pueden causar alteraciones enzimáticas y lesiones en los tejidos de los animales. Los metales pesados presentes en el alimento son frecuentemente causa de alteración en los resultados de los experimentos. El plomo es un contaminante común que afecta al riñón y al sistema nervioso central; el cadmio puede causar hipertensión, y el mercurio puede provocar daño tisular, especialmente en los fetos y en los animales inmaduros.

El crecimiento de hongos puede causar la proliferación de micotoxinas que contaminen el alimento y la cama. Dichas toxinas pueden causar ligeros cambios en la estructura y función de varios mecanismos del organismo, y algunas de ellas pueden ser carcinogénicas.

Es frecuente que el alimento esté contaminado con sustancias estrogénicas, las cuales causan efectos adversos significativos en el aspecto reproductivo. También es frecuente la presencia de antibióticos en el alimento, lo cual provoca cambios en la microflora intestinal, influye sobre el ritmo de crecimiento y pueden inducir la resistencia microbiana a la antibioterapia.

Los materiales que constituyen la cama, como ya se comentó en el capítulo respectivo, son factores importantes que deben ser considerados por los efectos adversos que causan.

Las alteraciones ocasionadas por condiciones de alojamiento inadecuadas serán tratadas dentro del capítulo "Instalaciones".

III. POLITICAS INSTITUCIONALES.

III.1 Sistemas de Control de los Animales de Laboratorio.

La implantación de un comité para regir el cuidado y utilización óptima de los animales es un instrumento efectivo para el desarrollo y control de las políticas adoptadas por la institución. Los miembros del comité serán representados por los diferentes grupos de trabajadores que laboren para la institución y solamente uno de los miembros debe ser un Doctor en Medicina Veterinaria. El comité es el responsable de los programas de evaluación del manejo de los animales para detectar fallas, corregirlas y mejorar o implementar nue

vas técnicas.

Una premisa básica de la institución será que el manejo de los animales lo practique únicamente personal capacitado para ello.

III.1.1 Atención Veterinaria.

Proveer una adecuada asistencia veterinaria es también una responsabilidad concerniente a la institución (ver cap. II.1 "Cuidados Veterinarios", pág. 45).

III.1.2 SISTEMA DE BARRERAS (38).

El Sistema de Barreras es un sistema que combina las características de construcción, de equipo y los métodos operacionales para estabilizar el medio ambiente y minimizar la posibilidad de que los animales confinados entren en contacto con gérmenes patógenos. El Sistema de Barreras puede consistir desde un simple cuarto con puertas automáticas y herméticas, hasta un sistema complejo de cuartos y corredores.

Así como no hay un modelo ideal de instalaciones, tampoco existe un modelo de barreras universalmente aplicable. Cada barrera es el resultado de múltiples factores que influyen en su diseño. La mayoría de las variables operacionales de los sistemas de barreras son debidas a la diferencia en cuanto a la calidad, al tipo y al origen de los animales, a la frecuencia e introducción de los mismos a través de la barrera, al ingreso de investigadores y técnicos, a los sistemas de ventilación y a las prácticas de monitoreo. A continuación se proporciona la clasificación de los sistemas de barreras basada en el método de control de la contaminación por ser la más comúnmente empleada. Esta clasificación toma en cuenta la interrelación entre el diseño físico y los métodos operacionales.

Tipo I: Barrera de Máxima Seguridad.

1. Origen del animal: animales definidos, microbiológicamente asociados.
2. Los animales son mantenidos en aisladores al cual son introducidos por mecanismos especiales.
3. Los materiales estériles (alimento, cama, jaulas o cajas y otros) se introducen al sistema de barreras sin contaminarse.
4. El personal que entra al sistema de barreras debe bañarse y cambiarse de ropa por otra esteril; debe utilizar también cubrebocas, escafandra, guantes y cubrebotas estériles.
5. Los investigadores deben seguir los mismos procedimientos que el personal técnico mencionado en el punto anterior.
6. El manejo y el cuidado de los animales debe realizarse de acuerdo a los procedimientos ya tratados en los capítulos anteriores.
7. El sistema debe contar con filtros HEPA, los cuales proporcionan hasta un 99.97% de confiabilidad, reteniendo partículas hasta de 0.3 μ . La recirculación del aire se permite si existe un sistema de monitoreo adecuado.
8. Los procedimientos de monitoreo deben incluir resultados estadísticos confiables con respecto a estudios microbiológicos, histopatológicos, nutricionales, etc.

Tipo II: Barrera de Alta Seguridad.

1. Origen del animal: animales mantenidos en barrera.
2. Los animales son introducidos al sistema de barreras a través de cajas con filtros en las tapas aunados a otros dispositivos de seguridad (la cuarentena dentro de las barreras es opcional).
3. Materiales estériles: igual al tipo uno.
4. Personal técnico: igual al tipo uno.
5. Investigadores: igual al tipo uno.
6. Cuidado de los animales: igual al tipo uno.
7. Debe filtrarse el aire suministrado. No debe permitirse la recirculación del aire, a menos que se utilicen filtros HEPA.
8. Monitoreo: igual al tipo uno.

Tipo III. Barrera de Seguridad Moderada.

1. Origen de los animales: son obtenidos de un criador honesto y confiable. Los animales deben haber sido monitoreados también bajo un sistema de barreras.
2. La introducción de animales será igual a la del tipo II pero deben alojarse en un mismo cuarto solo animales provenientes de un mismo criador.
3. El material y equipo utilizado para el alojamiento de los animales debe esterilizarse o en su defecto, desinfectarse muy bien. Las jaulas y cajas deben esterilizarse preferentemente por autoclave o lavarse con agua a 82.2 °C.
4. Personal técnico: igual al tipo uno aunque la utilización de mascarillas y guantes puede no ser estrictamente necesaria.
5. Investigadores: igual al punto anterior.
6. Cuidado de los animales: igual al tipo uno, o modificado para incluir el contacto manual.
7. La filtración del aire suministrado exige un 85% de confiabilidad.
8. Monitoreo: igual al tipo uno pero menos estricto.

Tipo IV: Barrera de Mínima Seguridad.

1. Origen del animal: igual al tipo III, excepto que éstos animales son generalmente monitoreados y retenidos dentro de la barrera. La nueva colonia puede tener, por lo tanto, anticuerpos conocidos de virus patógenos y puede contener ciertos agentes bacterianos. Son determinantes los criterios básicos de monitoreo para la selección y el uso apropiado de éstos animales.
2. Los animales pueden ser introducidos a través de corredores de salida (externos) minimizando la exposición. Los contenedores o transportadores no deben introducirse a los cuartos. Los animales pueden cuarentenarse fuera de las barreras y entonces introducirse mediante jaulas o cajas.
3. Material y equipo: igual al tipo III.
4. Personal técnico: entra por puertas especiales, pero las medidas de seguridad son menos estrictas que las del tipo III.
5. Investigadores: igual al punto anterior, o tienen una opción: al entrar a los cuartos de los animales deben portar cubrebocas, bata limpia, lavarse las manos y usar guantes. No deben entrar a otras habitaciones de animales o a corredores "limpios".

6. Manejo de los animales: en términos generales es similar al del tipo III.

7. Suministro de aire: igual al tipo III.

8. Monitoreo: igual al tipo III, aunque puede ser menos estricto. La intensidad del monitoreo puede adecuarse al propósito del experimento.

Los sistemas de barrera tipo I, II y III son aceptables para el mantenimiento de roedores por grandes períodos de tiempo. La utilización de la barrera tipo IV debe evaluarse cuidadosamente con base en el propósito del proyecto.

La flexibilidad de los sistemas básicos de barreras dependen de los objetivos de la investigación y del costo, pero siempre bajo la asesoría de un profesional en la materia.

III.2 Cualidades del Personal que Labore con los Animales (19).

El número y la calidad del personal requerido para conducir y mantener los programas de asistencia para los animales depende de varios factores, algunos de los cuales son: el tipo y el tamaño de la institución, la magnitud de las instalaciones específicas para los animales, la cantidad de especies animales consideradas, y el tipo y la frecuencia de las actividades necesarias para el desarrollo de la investigación o la docencia.

PERSONAL PROFESIONAL.

Los programas de asistencia para los animales requieren de personal profesional a nivel ejecutivo para que junto con los demás trabajadores los lleven a cabo. Este personal estará constituido por Médicos Veterinarios especializados en la materia y con amplia experiencia dentro del aspecto médico de los animales de laboratorio.

Es recomendable que éste tipo de personal sea empleado por "tiempo completo" para que esté supervisando las actividades realizadas. Si esto no es posible porque la institución es pequeña o porque el número de animales no lo amerita, puede ser suficiente con emplearlo por tiempo parcial.

El personal profesional debe ser capaz de evaluar las actividades peligrosas con el propósito de establecer las precauciones adecuadas y seleccionar las técnicas y los métodos de seguridad más efectivos.

PERSONAL ADMINISTRATIVO.

La institución debe contar con personal administrativo familiarizado con la cría de animales de laboratorio.

PERSONAL DE INVESTIGACION.

Es una obligación de la institución el asegurar que el personal dedicado a la investigación (técnico o profesional) practique los procedimientos adecuados en cuanto al manejo de los animales para que de ésta forma su trabajo sea humana y científicamente aceptable. Puede ser necesario implementar cursos especiales de entrenamiento para lograr éste objetivo.

PERSONAL DE LIMPIEZA.

Es indispensable contar con personal que proporcione mantenimiento e higienización de las instalaciones en forma uniforme y confiable. Es importante también comprobar que éste tipo de personal posea hábitos higiénicos aceptables.

La institución debe contribuir con el personal proporcionándole ropa de trabajo limpia y adecuada cuantas veces sea necesario. Lógicamente también debe proveer instalaciones apropiadas para el aseo personal (baños y vestidores), el cambio de indumentaria y el resguardo de la ropa de calle.

Debe prohibirse al personal que fume, beba o coma alimentos dentro de las áreas destinadas a los animales; dichas actividades las podrá realizar en las áreas de descanso apropiadas para éstos fines.

PROGRAMA DE SALUD PROFESIONAL.

Es obligación de la institución la implementación de un Programa de Salud Profesional aplicable a todas las categorías de personal, especialmente para aquellos que trabajen estrechamente con los animales. Este programa debe incluir exámenes médicos completos periódicos.

Se debe advertir y prevenir al personal que desempeñe actividades peligrosas reales o potenciales, y capacitarlo para que domine las técnicas más confiables y seguras.

Este programa de salud debe contemplar también la vacunación del personal contra las principales enfermedades zoonóticas a las que esté expuesto. Por ejemplo: para manejar carnívoros y murciélagos es imprescindible la vacunación antirrábica. Es importante también inmunizar contra el tétanos.

III.3 Experimentación con Agentes Peligrosos.

Las instituciones en las cuales se manejen agentes peligrosos dentro de la experimentación con animales deben contar con un reglamento interno que determine la posibilidad de su realización y que permita evaluar los sistemas de seguridad con que se cuenta; también determinará si se cuenta con el personal capacitado para ello y con las instalaciones requeridas. Estas funciones deben ser desarrolladas por el comité de seguridad constituido por representantes de los diferentes grupos de personal (ver "Sistemas de control de los animales"). Dicho comité vigilará constantemente que las disposiciones adoptadas por la institución se cumplan.

El manejo experimental desarrollado durante largos períodos de tiempo está frecuentemente asociado con estudios sobre la carcinogénesis química, la oncogénesis viral, la evaluación de componentes potencialmente tóxicos para el hombre y los animales, el estudio de virus "lentos", el estudio con radioisótopos, etc.. Por ello, deben tenerse cuidados extremos con respecto a las medidas de seguridad durante el manejo, el almacenamiento y el suministro de éstos agentes peligrosos.

Las instalaciones asignadas para la experimentación con éstos agentes deben proveer de áreas especialmente diseñadas para su segu-

ro y adecuado manejo. La utilización de agentes potencialmente peligrosos complica el diseño experimental ya que éste debe contemplar medidas de seguridad tanto para el personal como para los animales.

IV. INSTALACIONES.

Las condiciones físicas y el diseño de las instalaciones determinan su eficiencia, así como su repercusión económica, e influyen grandemente en la implementación de los programas de asistencia para los animales (27). Un diseño adecuado de las instalaciones permite que se facilite su mantenimiento y constituye un elemento importante para el bienestar de los animales (19). El diseño apropiado de las instalaciones debe ser complementado con la utilización de equipo eficiente y un manejo adecuado.

IV.1 Áreas Funcionales.

El diseño, el tipo y el tamaño de las áreas destinadas a los animales dependen básicamente de la naturaleza de las actividades propias de la investigación, del tipo de animales que van a ser alojados, de su ubicación con respecto al resto de la institución y de la localización geográfica (21).

El edificio destinado al alojamiento de los animales debe estar separado de los demás que constituyan la institución. Debe contar con habitaciones suficientes para permitir la separación de los animales por especie, para el aislamiento individual y para recibir y cuarentear a los mismos.

Las siguientes áreas pueden considerarse esenciales dentro de un bioterio moderno:

1. Áreas de reproducción.
2. Cuartos de experimentación.
3. Áreas de servicio.
4. Cuartos vestidores y de descanso (27).

1. Áreas de reproducción.

Como ya anteriormente se discutió, éstas áreas deben estar físicamente separadas de las áreas de experimentación y los animales nunca se introducirán de éstas al área de reproducción.

2. Cuartos de experimentación.

Para prevenir todo posible contagio, idealmente se tiene un cuarto para cada investigador en el que se aíslan sus animales respectivos para procedimientos tales como inoculación de sustancias, variaciones dietéticas, pesajes, extracción de fluidos, etc. El tamaño de los cuartos que provee de una adecuada libertad de movimiento, además de espacio para jaulas y contenedores es de 6 m X 3 m ó 4.5 X 4.5 m, por lo que un edificio con varios cuartos de éstas dimensiones sería el medio físico ideal. En cada cuarto debe haber contactos para el suministro de electricidad y para el aporte de gas y agua.

3. Áreas de servicio.

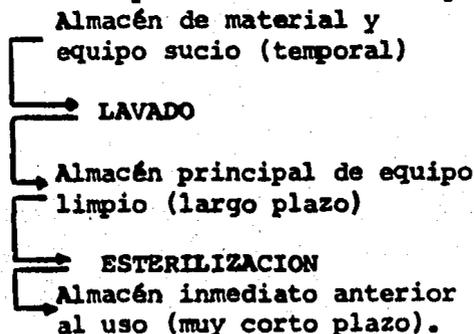
Es difícil establecer categóricamente las áreas de servicio re-

queridas para un bioterio de un tamaño determinado; sin embargo, en términos generales, las áreas básicas de servicio serán:

- Area de recepción de alimento, de animales y de refacciones.
- Area para cuarentenar.
- Area de aislamiento.
- Areas destinadas a la administración, supervisión y dirección. En la oficina del jefe técnico se llevarán los registros de producción de los animales.
- Almacenes para el alimento, cama y equipo. Se debe contar con áreas para el almacenamiento de alimento y cama antes de ser esterilizados, y estar separadas de las áreas en donde éstos materiales se almacenen ya esterilizados. Además, debe contarse con áreas de almacenamiento para jaulas y anaqueles que no estén siendo utilizados, así como un lugar especial para guardar enseres domésticos tales como equipo de limpieza, contenedores, bebederos, comederos, toallas, etc..
- Taller de reparación de jaulas y equipo.
- Areas para la colección y disposición de la basura y otro tipo de desechos.
- Laboratorios de diagnóstico.
- Area de incineración. Para coleccionar desechos de cama, excretas, cada veres también se debe contar con sacos sellados de papel o de plástico para ser conducidos al área de incineración, la cual no conviene que esté cerca de las áreas destinadas a los animales.
- Area de preparación de comida. En algunos laboratorios la experimentación requiere de dietas especiales, pero siempre y cuando se maneje una población de animales grande, ya que de lo contrario éstas se podrán preparar en los mismos cuartos de experimentación.
- Areas de esterilización y lavado. En aquellos lugares en que existan barreras estrictas, el equipo de esterilización como autoclave o esterilizador de óxido de etileno debe estar situado entre los cuartos de almacenamiento, comunicando a uno y a otro lado con el "área sucia" y el "área limpia" de la barrera, y cada acceso debe contar con un sistema de doble puerta (19,21).

Para unidades que no operen con éste sistema de barrera, el esterilizador debe situarse de tal forma que los materiales limpios y sucios se depositen lo más alejado posible. Es deseable que los materiales se esterilicen inmediatamente antes de ser utilizados o que el período de almacenamiento sea muy corto; asimismo, debe procurarse que los materiales sean lavados inmediatamente después de que salgan de las habitaciones de los animales.

Flujograma de lavado y esterilización de jaulas y equipo(27).



4. Cuartos vestidores y de descanso para todo tipo de personal. Deben incluirse vestidores con regaderas en todos los edificios, ya que no solo son importantes para el adecuado funcionamiento de las áreas, sino también para darle a entender al personal la importancia que éste tiene para la institución, máxime si cuenta con áreas de descanso cómodas y de aspecto agradable. Estas áreas estarán situadas lo más cerca posible de las zonas de acceso para el personal, e idealmente deben constituir una barrera con respecto a las áreas destinadas a los animales.

Nota: Dentro de las áreas de servicio debe incluirse también una sala de necropsias, para cuando se lleven a cabo muestreos como parte del monitoreo o cuando se requiera comprobar los diagnósticos. Dicha sala debe estar provista de todo el mobiliario y equipo necesarios.

En algunas ocasiones deberá contarse con instalaciones y equipo especiales dependiendo de las necesidades de la investigación realizada y de las políticas adoptadas por la institución.

IV.2 Distribución de las instalaciones.

Para el buen funcionamiento del bioterio se requiere de la separación de las instalaciones destinadas a los animales y las áreas proporcionadas al personal. Esto se puede lograr alojando a los animales en un edificio por separado, o también, en pisos separados, o simplemente distribuidos en puntos totalmente opuestos aún dentro de la misma planta.

Dentro de la planeación de construcción de bioterios se debe contemplar básicamente la relación física entre las diferentes instalaciones, que permitan comodidad de trabajo, funcionalidad y espacio suficiente de acuerdo a las necesidades particulares. La planeación adecuada permitirá que, por ejemplo, las áreas de alojamiento de los animales estén cercanas a los laboratorios de investigación, o que los vestidores tengan acceso directo a las áreas para animales, etc. (47).

IV.3 Lineamientos para la construcción.

Los materiales para la construcción se seleccionan con base en su eficacia y en la facilidad que de ellos se derive para la limpieza. (19). Materiales durables, impermeables, resistentes al fuego y de superficie lisa son los adecuados para los interiores de las construcciones.

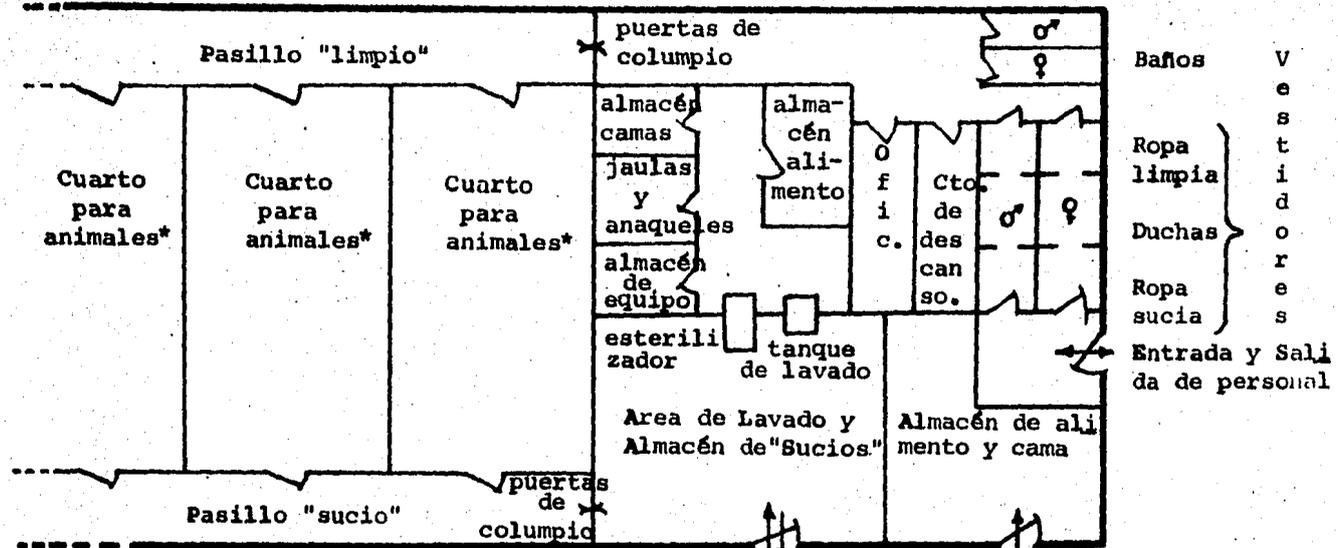
El tipo de construcción debe estar de acuerdo con el reglamento de construcción local y con las necesidades propias de la institución.

Las características de construcción, así como los materiales recomendados para ello se irán mencionando a continuación conforme se describan los componentes físicos que constituyen a las instalaciones:

PISOS.

Los pisos deben ser de material aislante, impermeable, no absorbente, no resbaladizo, resistente al tallado, resistente a solventes y a ácidos, resistente a los efectos de detergentes y desinfectantes, y capaz de soportar anaqueles y equipo de gran peso sin "levantarse", agrietarse o picarse. Dependiendo de las funciones de cada área específica los materiales de los pisos deben ser de una sola pieza, o en su defecto, tener un mínimo de uniones. Algunos materiales que han dado

Esquema de un edificio propuesto por Lane-Petter y Pearson (27)
en el que hay autosuficiencia en la producción.

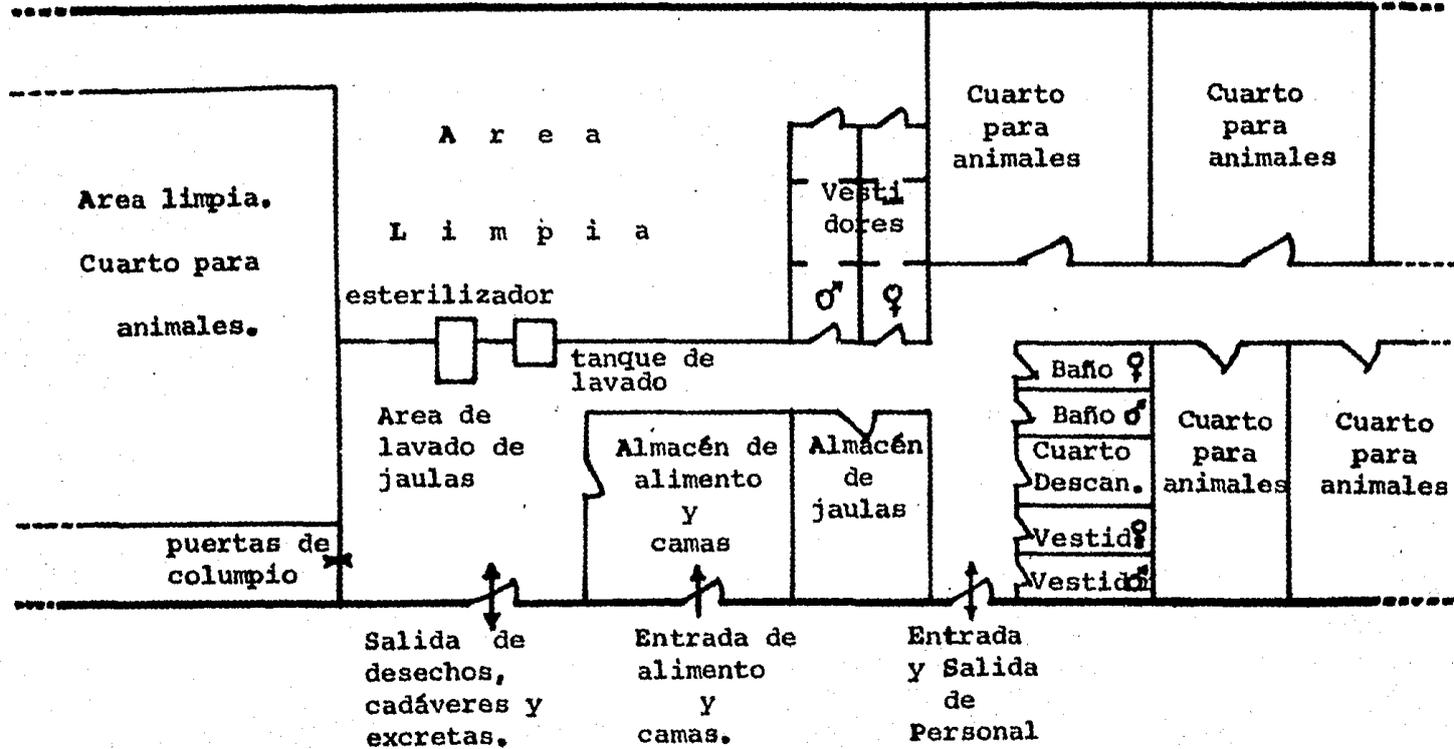


* NOTA: Los cuartos para animales se disponen en orden: reproducción, mantenimiento y experimentación.

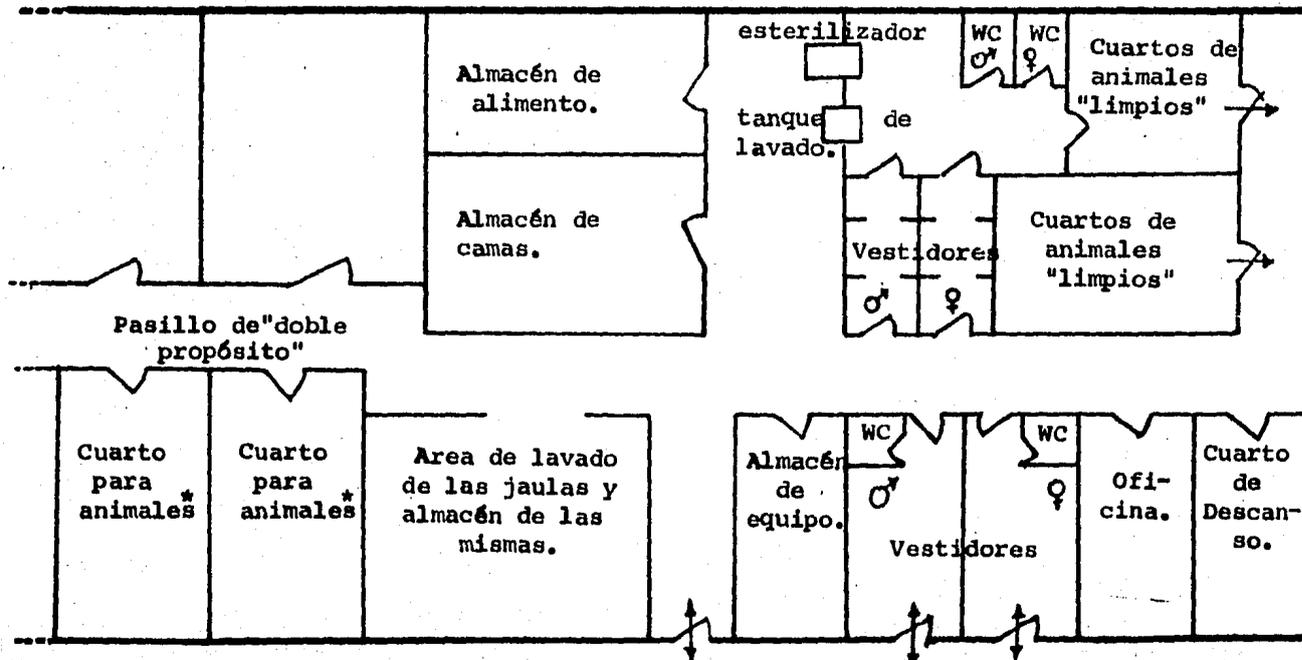
Entrada auxiliar
Salida al incinerador,
(salida de basura, desechos
y cadáveres).

Entrada de
alimento y cama

Esquema de un edificio propuesto por Lane-Petter y Pearson (27) en el que hay parcial aprovisionamiento externo de animales.



Esquema de un edificio propuesto por Lane-Petter y Pearson (27) en el que los animales están mezclados.



*NOTA: Los cuartos para animales se disponen en orden: reproducción, mantenimiento y experimentación.

Salida de desechos, cadáveres y excretas.

Entrada y Salida de personal.

buenos resultados son la resina epoxy, superficies de concreto aislante y productos sintéticos similares. Algunas veces puede ser necesaria una capa de impermeabilizante extra.

En lugares en donde los anaqueles son muy pesados, o bien, estén empotrados en la pared, el cloruro de polivinil provee de un piso adecuado, cómodo al pié y fácil de limpiar y trapear, además de tener una apariencia agradable.

Nota: Con respecto a la limpieza de pisos y paredes existe la tendencia de realizarla a través de lavado a chorro de agua con manguera. Las ventajas de éste sistema son dudosas ya que produce mucha humedad, condiciones incómodas de trabajo y facilitan la dispersión de las infecciones; además, requiere de pisos con declive, lo que conduce a la inestabilidad de la anaquelaría y las atarjeas tienden siempre a taparse constituyendo de ésta manera nuevos focos de infección (19,27,55).

PAREDES.

Las paredes deben estar libres de cuarteaduras y de uniones imperfectas con puertas, techos y esquinas. Deben ser resistentes al fuego, al ataque de roedores y otras plagas, e impermeables. La superficie debe ser siempre lisa y dura.

Las construcciones de madera no son recomendables (41).

Con respecto a las paredes divisorias, éstas podrán ser de mampostería, de metal, de fibra de vidrio u otros materiales similares. La madera es aceptable solo si se recubre con yeso, metal u otro material impermeable.

Las paredes también pueden ser recubiertas con plástico o con resina epoxy, o bien, con una capa de vinilo. Cuando se utiliza anaquelaría móvil y hay constante golpeteo en paredes se recomienda cubrir la mitad inferior de las mismas con metal.

Asimismo, se recomienda que el color de las paredes sea de una tonalidad clara, y si es posible, que cada cuarto tenga un color diferente para que sea lo más placentero y lo menos aburrido posible (19,41).

TECHOS.

Se recomienda que los techos sean de materiales impermeables, lisos y libres de uniones imperfectas. Los techos de material sólido como el concreto son muy adecuados, aunque igualmente lo son los recubiertos con yeso u otros materiales resistentes que deberán sellarse, pintarse y darles un acabado lavable.

Nunca se debe hacer correr tuberías de gas o de agua sobre el techo o cerca de él, ya que esto impide su limpieza y además, constituyen los lugares preferidos por las plagas (19,21, 37).

CORREDORES.

Los corredores deben tener un mínimo de 2.10 m de ancho para facilitar el movimiento de personal y equipo. Las uniones entre paredes y pisos no deben terminar en esquina (en ángulo recto) sino en curva para así facilitar la limpieza. Las esquinas se deben recubrir

con placas de materiales duros (metálicas preferentemente) ya que son las partes más expuestas a los golpes. Los corredores que conduzcan a zonas ruidosas (hacia áreas de casetas para perros, por ejemplo) tienen que estar provistos de mecanismos "antiruido" tales como sistemas "doble puerta". Siempre que sea posible, los accesos para instalaciones tales como tuberías, desagües, e instalaciones eléctricas deberán ser a través de paredes de servicio, dentro de los corredores pero fuera de las instalaciones destinadas a los animales. Otros servicios que deben instalarse en los corredores son lavamanos, pizarrones, e incluso los TIMERS de fotoperíodo (19,21,27).

PUERTAS PARA HABITACIONES DE ANIMALES.

Las puertas deben abrir hacia las habitaciones de los animales; si las puertas abren hacia algún pasillo, éste debe conducir solo hacia un vestíbulo. Las puertas miden como mínimo 2.13 m de alto y 1.07 m de ancho, lo que permitirá un fácil acceso para personal y equipo.

Las puertas deben estar convenientemente ajustadas a sus marcos, así como tener un contacto hermético que sirva de barrera para prevenir la entrada de gérmenes. Son preferibles las puertas de metal o recubiertas de éste, equipadas con cerraduras pero su mecanismo de cierre deberá ser automático. También son recomendables pequeñas ventanas transparentes en la parte superior de las puertas (19,21,27,55).

VENTANAS EXTERIORES.

No se recomienda tener ventanas exteriores o tragaluces en las habitaciones de los animales porque esto contribuye a hacer variar las características del medio ambiente interno, tales como temperatura y fotoperíodo (19,27).

DESAGUE.

Se recomienda tubería inmersa en el piso como sistema de desagüe solamente si tiene un diámetro apropiado, de acuerdo a las necesidades particulares de las habitaciones porque de lo contrario, se observan fácilmente constituyendo focos de infección y productores de malos olores. El diámetro mínimo de la tubería recomendable es de 10.2 cm. Si los pisos tienen declive (lo cual no es recomendable como ya se mencionó) éste será de 2.1 cm/m de longitud como mínimo. En áreas para cargas pesadas, tales como casetas para perros, es recomendable que la tubería tenga un mínimo de 15.3 cm de diámetro. Cuando no se utilice, se recomienda tapar la tubería para prevenir la salida de gases mefíticos, o para evitar que sea utilizada para eliminar desechos que deberían ser desalojados por otros medios (19,37,41).

Cuando se cuente con tubería muy ancha es una forma efectiva para la eliminación de basura sólida, sin embargo, no es deseable porque es más dificultoso el transporte de éste tipo de materiales a través de un conducto (19).

MEDIO ATMOSFERICO.

El medio atmosférico es vital para la salud de los animales y para la comodidad del investigador y del técnico. Las condiciones del

medio ambiente apropiado para las diferentes especies de animales de laboratorio son cada vez más ampliamente conocidas.

VENTILACION.

El propósito de la ventilación es proveer al animal de sus requerimientos de oxígeno y calor, así como remover los productos propios de la respiración y el exceso de calor corporal generado por todos los animales en conjunto. Además, mediante la ventilación se regula la humedad y se logra una dilución ambiental de bacterias y polvo del aire que proviene de las jaulas. Los factores importantes para proporcionar una ventilación adecuada son: temperatura, humedad, calidad y cantidad del aire circulante (19,21,27).

La temperatura óptima para el alojamiento de los animales se encuentra generalmente dentro de la zona de termoneutralidad (rango ambiental dentro del cual se mantiene la temperatura corporal con un mínimo de actividad metabólica) o ligeramente inferior a ésta. La ganancia de calor de los animales de laboratorio se puede estimar mediante los siguientes cálculos:

$$HG = 2.5 M \quad M = 2.92 Wt^{0.75}$$

Donde HG es igual a la ganancia de calor de los animales (Kcal/hr), M es igual al ritmo metabólico (Kcal/hr) y Wt es igual al peso corporal del animal (Kg). Basado en lo anterior, la ganancia de calor de la rata y el ratón es: (38)

Roedor	Peso (g)	Ganancia de Calor (Kcal/hr)
Rata	250	2.581
Ratón	21	0.403

(38).

Particularmente, la temperatura y la humedad pueden ser controladas mediante la elección de la caja o jaula apropiada. El alojamiento tipo caja predispone al mantenimiento de humedad relativa alta, sobre todo cuando se utiliza viruta como cama. Las cajas con filtros en las tapas (filter top) controlan adecuadamente el microambiente, aunque también presentan un mayor grado de condensación de vapor de agua, con lo que se incrementa la humedad interna. Los rangos de temperatura y humedad relativa recomendables son:

Roedor	Temperatura °C	Humedad Relativa %
Rata	18 - 24	45 - 55
Ratón	20 - 24	50 - 60
Conejo	18 - 20	50 - 60

(38,40,59)

El aire proporcionado a las habitaciones de los animales debe tomarse de afuera, filtrarse y ajustarse a la temperatura y humedad deseada; posteriormente se distribuirá a las habitaciones mediante conductos específicos. Para que el aire circule por éstos conductos tiene que crearse una presión diferencial entre los extremos del ducto, lo cual se obtiene mediante un ventilador de aspas. La misma diferencia de presiones deberá existir entre la salida del conducto y el res

to del cuarto, y se nulifica cuando se abre la puerta o cuando hay grietas en paredes, pisos o techos, hecho que deberá tenerse muy en cuenta.

La calidad del aire suministrado puede lograrse mediante la utilización de filtros de aire en las habitaciones, o utilizando un sistema de extractores e inyectores de aire, o también, mediante la utilización de filtros en las tapas de las cajas y jaulas como ya se mencionó. Se ha reportado durante la utilización de filtros en las tapas de cajas y jaulas que además de predisponer a una mayor humedad permiten con facilidad la acumulación de amonio (38). En las ratas existe una interrelación bien estrecha entre los niveles de amonio y los desórdenes respiratorios (5), así como en el metabolismo de las drogas con respecto al sistema microsomal enzimático (57).

Con densidades bajas o moderadas de animales son suficientes 10 cambios del aire total por hora, pero cuando la población animal por cuarto asciende se requieren no menos de 15 cambios por hora. La cantidad de aire proporcionado recomendable para los roedores en una forma aproximada es la siguiente:

Roedor	Peso (g)	m ³ /hr/animal
Rata	250	1.38
Ratón	21	0.25
Conejo	--	--

(38)

La recirculación del aire no es recomendable, a menos que se utilicen filtros HEPA, los cuales son capaces de retener partículas hasta de un diámetro de 0.3 micras, confiriendo un 99.97% de efectividad en el depuramiento del aire.

Existe un sistema recirculador de aire relativamente nuevo - que consiste en una serie de columnas de agua que aspiran el aire. Las ventajas potenciales de éste sistema incluyen alta eficacia para la filtración de partículas y gases contaminantes (38). A través de los sistemas de recirculación se optimiza la utilización de la energía pero, debe siempre evaluarse la calidad del aire suministrado, especialmente con respecto a la concentración de productos químicos y biológicos tóxicos, principalmente gases.

Debe procurarse que los animales con necesidades afines se alojén en instalaciones contiguas para que así el rango de ajuste de temperatura, humedad y presión de aire sea mínimo.

Es importante considerar que áreas especiales tales como de cuarentena, de aislamiento, de desechos y áreas donde se utilicen agentes peligrosos deben permanecer bajo presión negativa; en cambio, áreas "asépticas" y áreas para animales libres de patógenos deben permanecer bajo presión positiva (19).

ILUMINACION.

La iluminación permite a los mamíferos la estimulación de fotoreceptores, es responsable de la fotoperiodicidad y regula los ritmos circadianos. El efecto más aparente de la duración de la iluminación proporcionada se refleja en la ciclicidad reproductiva.

La iluminación puede proveerse de dos formas básicas: mediante iluminación natural y mediante iluminación artificial. La iluminación natural proporcionada mediante ventanas ^{tiene} varias desventajas como son: a) dificultad para la regulación de la temperatura; b) dificultad para el control de los fotoperíodos. Básicamente por ésto se recomienda más la luz artificial, y de ella, preferentemente la luz "fría".

Energía eléctrica y alumbrado. El sistema eléctrico debe proporcionar una iluminación constante y adecuada, y además, salidas de energía ("tomas" o "fuentes") seguras (ubicadas a 1.53 m del piso en quirófanos donde se utilicen anestésicos explosivos, e impermeables, en donde se utilice agua para efectuar la limpieza). El sistema de alumbrado se distribuye de manera uniforme para proporcionar una adecuada iluminación.

La intensidad de la luz artificial proporcionada se puede expresar en candelas (lumen/pie cuadrado) o en Lux (lumen/m²). La intensidad recomendada para las habitaciones de los animales oscila entre 807 y 1345 lumen's/m², y las horas-luz proporcionadas al día depende de la especie animal considerada. La fotoperiodicidad consiste en la cantidad de horas-luz proporcionadas en relación con las horas de oscuridad dentro de un ciclo de 24 horas (periodo circadiano)(38).

El disponer de controles para regular la intensidad de la luz suministrada permite proporcionar el tipo de luz adecuado a cada especie, facilita el trabajo del personal dentro de las habitaciones y permite el ahorro de energía.

La iluminación de tipo fluorescente es adecuada y puede proveerse mediante una gran variedad de tipos de lámparas.

Todas las lámparas colocadas en los techos deben sellarse herméticamente para evitar que ahí se refugien insectos u otros bichos.

Las diferentes longitudes de onda del espectro visible afectan la actividad de los ratones. Estos efectos se deben a estímulos visuales y, por regla general, entre mayor es la longitud de onda más conveniente es la luz para estimular la actividad. Sin embargo, la actividad resulta mayor en la oscuridad debido a la naturaleza nocturna de los ratones. La rodopsina, el pigmento rojo de los bastones de la retina, absorbe todos los colores visibles de la luz, excepto el rojo; por lo tanto, en la oscuridad la luz roja no es visible y la actividad de los animales bajo éste tipo de luz es la misma que en la oscuridad. También se ha reportado que los colores claros afectan a los ratones en forma diferente de acuerdo al sexo, color del pelaje y edad. Tres colores claros: dorado, rosado y celeste, han demostrado tener efecto sobre la eficiencia reproductiva (51). Los ratones sometidos a una total oscuridad muestran la tendencia a producir camadas menos numerosas, a pesar de no afectarlos de ningún otro modo.

CONTROL DEL RUIDO.

El ruido es indeseable porque afecta adversamente a los animales y al personal. Puesto que ruidos operacionales o secundarios constituyen un factor ambiental dentro del control de los experimentos, éstos se deben considerar cuando se designen los alojamientos para los animales.

Las actividades ruidosas tales como el lavado de jaulas y la eliminación de desperdicios alteran a los animales por lo que la realización de éstas actividades requiere de áreas aisladas y específicas. Los ruidos molestos provocados durante el manejo rutinario se pueden minimizar adiestrando al personal y utilizando llantas de goma y topes en carros, carretillas y anaqueles.

Con respecto al control del ruido las paredes de concreto son más efectivas porque debido a su densidad reducen la transmisión del sonido. El utilizar material acústico dentro de las habitaciones por aplicación directa sobre paredes y techos (plafones) representa problemas de bienestar para los animales porque propagan fácilmente el sonido; además, los plafones no permiten una limpieza adecuada y son el sitio de resguardo ideal para insectos y otros bichos.

Ratas, ratones, cuyes y hamsters no crean disturbios ruidosos y deben alojarse lejos de especies que sí los crean. Los perros son la causa común de ruidos molestos ya que distraen a los demás animales y al personal durante sus labores. Esto también puede ser un problema importante de relaciones públicas si las oficinas están cercanas a los laboratorios y áreas destinadas a animales (38).

El ratón es sumamente susceptible al ruido, aunque en realidad esto depende de la estirpe. Ruidos tales como ladridos de perros, perforaciones eléctricas, etc. pueden llegar a provocar hasta convulsiones a los ratones. También parece ser que la secreción de la hormona del crecimiento (STH) se ve influenciada por el ruido al que son impuestos los animales. Debido a que la susceptibilidad a las convulsiones puede depender de factores ambientales como alarmas de incendio, teléfonos, ruidos de latas vacías y de cajas de metal, éstos efectos deben ser rígidamente controlados dentro de cualquier experimento sobre audición que sea efectuado en ratones (51).

Los efectos de los ruidos sobre los animales serán proporcionales a la duración del sonido, a la cantidad de decibeles y a la frecuencia de la exposición.

AREAS DE ALMACENAMIENTO.

Las áreas destinadas al almacenamiento de diversos productos requieren de condiciones ambientales específicas, de acuerdo al tipo de producto que contengan. El alimento y la cama se deben almacenar bajo las condiciones apropiadas ya revisadas anteriormente. Los desechos de origen biológico y todo material perecedero requiere de condiciones de refrigeración. Los materiales "desagradables" se deben envolver y envasar. Pueden requerirse congeladores para almacenar materiales biológicos peligrosos. Además, es indispensable contar con áreas de almacenamiento adecuadas para el equipo que no se esté utilizando. Esta área debe construirse de tal manera que no permita la contaminación.

IV.4. INSTALACIONES ESPECIALES.

Si la investigación que se practica requiere de técnicas quirúrgicas asépticas, la institución debe contar con un quirófano de acuerdo a sus necesidades y posibilidades. El quirófano debe ser habilitado con el equipo quirúrgico apropiado y los accesorios respectivos. Las tomas de energía deben estar a 1.53 m del piso para reducir las posibilidades de explosión por contacto con anestésicos susceptibles. Esto también es necesario si se tiene un piso de tipo "conductor". Para mayores detalles consultar la bibliografía relacionada con las prácticas quirúrgicas.

Si la investigación en animales involucra la utilización de agentes físicos, químicos o biológicos peligrosos, se requieren características especiales de trabajo y equipo de seguridad. La protección se lleva a cabo guardando primeramente los agentes peligrosos, utilizando para ello un lugar seguro y específico. Los sistemas de protección primarios tales como campanas de extracción son esenciales. Los sistemas de protección secundarios pueden consistir en extractores e inyectores de aire a presión negativa. Debe enfatizarse, que los dispositivos especiales de seguridad no son sustitutos de un manejo adecuado de los agentes peligrosos. Por ello, el trabajo adecuado con este tipo de materiales depende en gran parte de la aplicación rigurosa y eficiente de las medidas mínimas de seguridad.

IV. 5. ESPACIOS O AREAS RECOMENDADAS PARA LOS PRINCIPALES ANIMALES DE LABORATORIO.

Este es un aspecto muy importante para el manejo adecuado de los animales de laboratorio, dado que muchos de los conflictos sociales experimentados por ellos son producto del aprovisionamiento de un espacio vital deficiente (2). Además, el espacio proporcionado también influye en las condiciones de higiene y salud en que se encuentren los animales, ya que en un momento dado restringen o facilitan la transmisión de enfermedades (5,24). También influye en el bienestar general del animal y en la calidad del servicio que pueda proveérsele (alimento, agua, cambio de cama, etc.), lo que a la larga redundará en su rendimiento dentro de las diversas facetas que comprende la investigación biomédica.

Las siguientes recomendaciones se basan en la mejor información disponible y actualizada con respecto a los espacios razonables para el alojamiento de los animales destinados a la investigación. Las marcadas variaciones de conformación corporal, las posturas preferidas y las características de locomoción propias de las diferentes especies requieren del criterio de un profesional en la materia para seleccionar las condiciones de alojamiento más apropiadas. Los sistemas de alojamiento deben estar bajo continua supervisión.

ESPACIOS O AREAS RECOMENDADAS PARA LOS PRINCIPALES ANIMALES DE LABORATORIO (19).

Espècie animal	Peso corporal	Tipo de alojamiento	Area de piso/animal	Altura ⁿ
Pollos	(-) 0.5 kg	jaula	232.3 cm ²	q
	0.5-2 kg	"	464.5 cm ²	q
	2-4 kg	"	1090.4 cm ²	q
	(+) 4 kg	"	1651.7 cm ²	q
Borregos y Cabras	(-) 25 kg	corral	0.93 m ²	---
	25-50 kg	"	1.39 m ²	---
Cerdos	(+) 50 kg	"	1.86 m ²	---
	(-) 50 kg	corral	0.56 m ²	---
	50-100 kg	"	1.11 m ²	---
Bovinos	(+) 100 kg	"	2.79 m ²	---
	(-) 350 kg	estaci3n	1.49 m ²	---
	350-450 kg	"	1.77 m ²	---
	451-550 Kg	"	1.95 m ²	---
	551-650 kg	"	2.23 m ²	---
	(+) 650 kg	"	2.51 m ²	---
	(-) 75 kg	corral	2.23 m ²	---
	75-200 kg	"	4.64 m ²	---
	201-500 kg	"	9.29 m ²	---
	501-600 kg	"	11.15 m ²	---
601-700 kg	"	13.01 m ²	---	
(+) 700 kg	"	13.94 m ²	---	
Caballos	---	amarrado en pesebre	4.09 m ²	---
	---	corral	13.38 m ²	---

n = altura del piso al techo de la caja o jaula.

o = éstas recomendaciones pueden modificarse de acuerdo a la conformaci3n corporal de los animales criados. En general, la altura de la jaula de los perros deber3 ser igual a su alzada m3s un m3nimo de 15.2 cm; el largo y el ancho de la jaula ser3 equivalente a la longitud del perro, desde la punta de la nariz hasta la base de la cola, m3s un m3nimo de 15.2 cm.

p = los primates son agrupados de acuerdo a su talla. Ejemplos de algunas especies que pueden ser incluidas en los grupos ya clasificados:

Grupo 1: mono titi, y otras especies menores.

Grupo 2: cebus y especies similares.

Grupo 3: macacos y grandes especies africanas.

Grupo 4: baboons y monos no braquic3falos mayores de 15 kg.

Grupo 5: primates no humanos mayores y especies braquic3falas.

Los primates solo podr3n alojarse en grandes grupos si son especies compatibles. La altura m3nima de las jaulas es de 1.83 m. La al-

tura mínima de las jaulas para chinpancés y especies braquicéfalas (orangutanes, monos araña, etc.) debe ser la suficiente que les permita trepar y girar en las paredes y techo de la jaula sin que sus pies toquen el piso cuando estén completamente estirados.

q = el espacio proporcionado debe ser el suficiente que permita el desplazamiento libre de las aves y además, facilite la instalación y mantenimiento de perchas verticales.

Con respecto a los conejos deben tomarse en cuenta las siguientes consideraciones:

JAULAS:

MATERIAL	ABERTURA	PARTE DE LA JAULA
Tela de alambre galvanizado y soldado, calibre: 14	1.8 X 1.8 cm	piso
Calibre: 16	2.5 X 1.2 cm	piso
De 1.6 a 2 mm	1.9 X 1.9 cm	piso
Metal expandido o alambre galvanizado: calibre: 14	2.54 a 3.05 cm ²	piso
Alambre No. 10 y No. 12	2.5 X 1.0 cm	piso
Tela de alambre galvanizado y soldado: calibre: 16	7.5 X 2.5 cm	Paredes y techo
Alambre No. 10 y No. 12	5.0 X 2.5 cm	Paredes y techo

(42).

Las medidas están sujetas principalmente al tipo y al costo del material utilizado, al espacio disponible, al número de animales que se vayan a alojar y al tamaño de la raza.

Se puede considerar que las medidas promedio para jaula individual de conejo Nueva Zelanda blanco son:

Ancho	Largo	Altura
48 cm	61 cm	46 cm

(mínimo 35.5 cm)

Sin embargo, con el objeto de dar una visión más amplia sobre los criterios de medición, a continuación se proporcionan las medidas sugeridas para jaulas individuales de acuerdo al tamaño de la raza: razas pequeñas (1.36-2.26 kg); razas medianas (2.72-3.62 Kg) y razas gigantes (+ de 4 Kg).

	R. Pequeñas	R. Medianas	R. Gigantes
LARGO	76 cm	91 cm	122 cm
ANCHO	61 cm	61 cm	61 cm
ALTURA	46 cm	46 cm	46 cm

(42,55).

NIDALES:

Ancho	Largo	Altura
30 cm	40 cm	30 cm

Por lo general se considera que la altura de la entrada del nidal no deberá ser menor a 7 cm, ni mayor a 15 cm desde el piso.

Los nidales suelen hacerse de madera, pero también pueden utilizarse para su construcción: lámina de fierro, asbesto, fibra de vidrio, etc. (42).

V. CEPAS ANIMALES PARA USOS ESPECIALES DENTRO DE LA INVESTIGACION.

Dentro del campo de la investigación muchas veces se requiere de especies o de cepas animales que reúnan determinadas características físicas, biológicas o económicas que faciliten los resultados esperados. Esto ha generado la necesidad de desarrollar técnicas para la obtención de cepas animales con características específicas predefinidas (35). Tal es el caso de las cepas de ratas espontáneamente hipertensas (SHR) y de los ratones desnudos timo-deficientes que a continuación se describen en forma breve.

V.1 Ratas Espontáneamente Hipertensas (SHR).

La hipertensión crónica (HC) del hombre se puede dividir para su estudio en Hipertensión Crónica Primaria (HCP) y en Hipertensión Crónica Secundaria (HCS). Las causas de la HC Secundaria incluyen: alosteronismo primario, glomérulo-nefritis crónica, estrechamiento de la aorta, hipertensión renovascular, etc.. La etiología de la HC Primaria se desconoce aún. Por desgracia, la mayoría de los pacientes hipertensos (90%) padecen la de tipo primario (también llamada hipertensión esencial). Se cree que la hipertensión esencial es el resultado de una gran variedad de disturbios fisiopatológicos, por lo que están involucradas alteraciones orgánicas y del metabolismo, específicamente con respecto a la biosíntesis de las catecolaminas. Se ha reportado que las alteraciones dentro del metabolismo de las catecolaminas son de origen genético. También se ha especulado sobre el que disturbios en el sistema nervioso y en el patrón de comportamiento - facilitan la presentación de la enfermedad (35).

Las ratas espontáneamente hipertensas (SHR) constituyen un modelo animal experimental casi ideal para el estudio de la hipertensión experimentada por el hombre, ya que existe una gran afinidad entre las enfermedades padecidas por ambos.

V.1.1 Las semejanzas entre la hipertensión esencial del hombre y la hipertensión espontánea de las ratas son básicamente las siguientes:

1. Existe predisposición genética en ambas. La enfermedad se atribuye a la interacción de varios genes ("poligenética") y no solo a uno en ambas especies.
2. El curso de la hipertensión es similar. Aún cuando hay gran variabilidad individual, la hipertensión en el hombre tiende a incrementar se con la edad. Lo mismo se observa en las ratas.
3. Las lesiones cardiovasculares son muy similares en ambas enfermedades, y son: hipertrofia ventricular izquierda, falla cardíaca congestiva, nefrosclerosis, fase maligna de hipertensión con necrosis fibrinoide en arteriolas y pequeñas arterias
4. Los cambios hemodinámicos observados en la hipertensión esencial se caracterizan por un desbalance en el trabajo cardíaco y por un aumento en la resistencia periférica. Este patrón hemodinámico también se observa en las ratas espontáneamente hipertensas.
5. Por mucho tiempo se ha considerado a la sal un factor importante en

el desarrollo de la hipertensión arterial. Dietas restringidas de sal y la adición de diuréticos permiten disminuir la presión elevada. La presión sanguínea en las SHR también es influida por la cantidad de sal ingerida. El desarrollo de la enfermedad se acelera mediante un exceso de ingestión de sal y se retarda con una dieta pobre.

6. La terapia con drogas antihipertensas utilizada para controlar la enfermedad en el hombre es igualmente aplicable a las ratas. Dicha terapia ha logrado en ambas especies disminuir la incidencia de ataques al corazón, falla congestiva cardiaca, falla renal y aneurismas.

7. El desarrollo de la enfermedad en ambas especies es muy parecido. En los estados iniciales no hay signos evidentes. Posteriormente aumenta paulatinamente la resistencia periférica, y más tarde aparecen las complicaciones cardiovasculares, el agravamiento por la cantidad de sal ingerida y la respuesta favorable ante la terapia antihipertensa.

Por todas las razones anteriores las ratas espontáneamente hipertensas representan un modelo experimental que brinda muchas ventajas para el estudio de la hipertensión esencial del hombre, y la principal de éstas, es que se obtiene una historia clínica completa de la enfermedad en un período menor a los dos años⁽⁵²⁾. Dada su utilidad, éstas ratas se encuentran distribuidas en casi todo el mundo, pues desde que se descubrieron en Japón (por Okamoto en 1960), éste país se ha encargado de exportarlas en grandes cantidades. Actualmente casi todas las ratas de éste tipo utilizadas en U.S.A. y en Europa proceden del Japón.

V.1.2. Cepas y subcepas de ratas espontáneamente hipertensas.

Originalmente las primeras ratas hipertensas detectadas por el Dr. Okamoto en la Universidad de Kyoto, pertenecían a la raza Wistar, mismas que posteriormente recibieron el nombre de ratas espontáneamente hipertensas (SHR) (43). Con éstas ratas, mediante cruzamientos consanguíneos apropiados se logró establecer una cepa. En años recientes se han obtenido varias subcepas debido al interés de desarrollar modelos animales aún más específicos de las diferentes enfermedades cardiovasculares. Por ejemplo, se tienen ratas SHR-propensas al paro cardíaco, las cuales exhiben una hipertensión mayor que el promedio de SHR, y además presentan una alta incidencia de ataques al corazón.

V.1.3 Utilidad de las ratas espontáneamente hipertensas en otros modelos experimentales.

● Modelo experimental para el estudio de la Aterosclerosis y el Infarto Cardíaco. Las SHR han proporcionado evidencias de la interrelación entre la hipertensión y la aterosclerosis. Por ésta razón se utilizan ratas SHR-obesas obtenidas originalmente por Kolestyry.

● Modelo experimental para la Evaluación de Drogas. Desde hace mucho los investigadores demostraron la efectividad de las drogas antihipertensas. Freis (10) utilizó una combinación de reserpina, hidrazina y clorotiazina para éste efecto, administrando el tratamiento en animales por largos períodos de tiempo sin aparente toxicidad. Por ésto las SHR se utilizan también como modelo animal experimental.

* Modelo experimental para el estudio de la Eritrocitosis. Las SHR - se han empezado a utilizar como modelo para el estudio de la eritrocitosis debido a que se ha comprobado que éstos animales poseen un incremento en la producción de eritrocitos y elevados niveles de eritropoyetina (53). Esta anomalía es paralela al incremento de los niveles de renina circulantes.

V.2 Ratones Desnudos Timo-deficientes.

El ratón desnudo cada día adquiere más importancia dentro de la investigación biomédica, particularmente dentro de las áreas de inmunología y oncología. Este ratón mutante se caracteriza por no tener pelo, por presentar aplasia tímica y por la aceptación de injertos de tejidos normales y neoplásicos. También experimenta dificultad para el apareamiento (problemas para la erección). Su baja competencia inmunológica le confiere una alta susceptibilidad ante las variaciones ambientales. Sin embargo, mediante los cuidados apropiados éstos ratones tienen una longevidad similar a la de los ratones normales de laboratorio. Los ratones desnudos pueden ser una herramienta valiosa de trabajo pero solo si se preserva su salud y se les proporciona el manejo adecuado (35).

Al principio éstos ratones solo llamaban la atención por su aspecto pelaje, pero después se observó que presentaban un timo deficiente (44). La característica de desnudez responde a una alteración genética (8). Ratones homocigóticos (nu/nu) son esencialmente pelones (aunque puede percibirse un pelaje mucho muy fino, además de que histológicamente se ha demostrado la presencia de folículos pilosos) y con un timo anormal. Los ratones heterocigóticos (nu/-) aparentemente son normales en todos sus aspectos. (18).

Existen varios genes mutantes en el ratón que producen el fenotipo "sin pelo": Nude (desnudo), Naked (desnudo), Hairless ("sin pelo"), Rhino (13), sin embargo, no deben confundirse entre sí. Cada uno tiene una interacción genética diferente, y de éstos, solo el Nude presenta la deficiencia tímica asociada. Por ello los términos ratón desnudo, ratón pelón no se deben utilizar indistintamente. En el presente trabajo se hace referencia únicamente a los ratones desnudos timo-deficientes (nude).

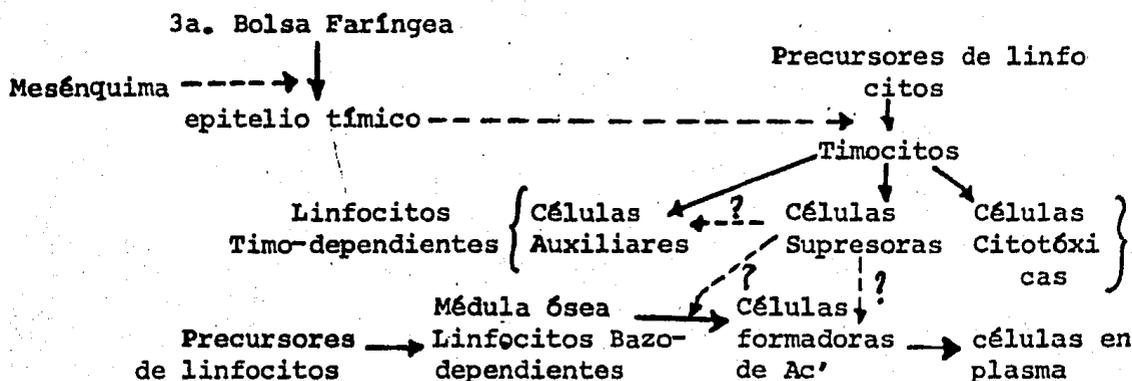
V.2.1 El ratón desnudo timo-deficiente.

La mutación apareció primero en una línea de ratones no sanguíneos que portaban otros defectos genéticos serios. Por una serie de apareamientos la mutación se introdujo en varias cepas de ratones; ésta técnica finalmente logró que la característica fuera homocigótica con respecto al locus "Nude". Las cepas obtenidas fueron la C-57 BL/10 y la C-57 BL/10 nu. Actualmente el ratón desnudo está siendo introducido en otras cepas de ratones con la esperanza de que puedan ser detectados otros fenotipos diferentes como resultado de la combinación genética.

V.2.2 Las deficiencias del ratón desnudo timo-deficiente.

Los ratones tienen los precursores normales necesarios de células linfocíticas timo-dependientes ("T"), pero tienen un epitelio tímico anormal que es incapaz de inducir la diferenciación de éstas células en linfocitos T. Esta anomalía del timo es el resultado de una displasia, o de una aplasia inclusive. La falta de crecimiento de pelo probablemente no se debe directamente a la lesión tímica, pero la interacción entre ambas anomalías aún no se ha determinado (35).

A manera de resumen en el siguiente esquema se observa la importancia del timo y de los linfocitos timo-dependientes. Las líneas punteadas indican la interacción con otros tejidos (35).



Para mayor información acerca de la deficiente respuesta inmune de los ratones desnudos timodeficientes consultar a Rygaard y Povlsen, así como a Wortis (49,64).

Lair y colaboradores (25) han reportado la reciente obtención de ratones atímicos aesplénicos (nu/nu, Dh/-) homocigóticos y heterocigóticos para éstas características respectivamente.

V.2.3 El ratón desnudo timo-deficiente y las enfermedades.

Estos animales viven poco más de un mes si se crían en habitaciones de animales convencionales, ya que su deficiencia inmune los hace presa fácil de infecciones bacterianas, virales y fungales. Por ello es indispensable contar, durante su crianza y manejo, con un programa de monitoreo rígido de su salud (4).

Las ratas espontáneamente hipertensas (SHR) y los ratones desnudos timo-deficientes son tan solo algunos ejemplos de la gran utilidad que representan para la comunidad científica los animales de laboratorio.

LITERATURA CITADA.

1. AIN AD HOC COMMITTEE ON STANDARS FOR NUTRITIONAL STUDIES: Report of the AIN Ad Hoc Committee on Standars for Nutritional Studies. J. Nutr., 107: 1340-1348 (1977).
2. ANDER, R.: The influence of psicological factors on disease susceptibility in animals. M.L. Conalty, Husbandry of laboratory animals. Academic Press, New York, 1967.
3. ARRINGTON, L.R.: Introductory Laboratory Animal Science. The breeding, care and management of experimental animals. 2th ed. The Interstate Printers and Publishers, Illinois, 1978.
4. ARTZT, K.: Breeding and husbandry of "nude" mice. Transplantation, 13: 547-549 (1972).
5. BRODERSON, J.R. and LINDSEY, J.R.: The role of environmental ammonia in respiratory mycoplasmosis of rats. Am. J. Pathol., 85: 115-130 (1976).
6. COMMITTEE ON ANIMAL NUTRITION: Nutrient requirements of laboratory animals. 2th ed. National Academic of Sciences, Washington, D.C., 1972.
7. FESTING, M.F.W.: Mouse strain identification. Nature London, 238: 351-352 (1972).
8. FLANAGAN, S.P.: Nude, a new hairless gene with pleiotropic effect in mouse. Genet. Res., 8: 295-309 (1966).
9. FOSTER, H.L., BLACK, C.O. and PFAU, E.S.: A pasteurization process for pelleted diets. Lab. Anim. Care, 14: 373-381 (1964).
10. FREIS, E.D., RAGAN, D., PULLSBURY, H. and MATHEWS, M.: Alteration of the course of hypertension in the spontaneously hypertensive rats. Circ. Res., 31: 1-7 (1972).
11. GONZALEZ LUARCA, E.: Datos y características de algunos animales de laboratorio. Secretaría de Salubridad y Asistencia, México, D.F., 1970.
12. GRANT, L.P., HOPKINSON, J., JENNINGS, J. and Jenner, F.A.: Period of adjustment of rats used for experimental studies. Nature London, 232: 135 (1971).
13. GREEN, E.L.: Biology of the laboratory mouse. 2th ed. McGraw-Hill, New York, 1966.

14. GREEN, E.L.: Handbook on genetically standardized Jax mice. 2th ed. The Jackson Laboratory, Bar Harbor, Maine, 1971.
15. HAFEZ, E.S.E.: Reproduction and breeding techniques for laboratory animals. Lea and Febiger, Philadelphia, 1970.
16. HARKNESS, J.E. and Wagner, E.: The biology and medicine of rabbits and rodents. Lea and Febiger, Philadelphia, 1977.
17. HART, L. and FOUTS, J.: Further studies on the stimulation of hepatic microsomal drug metabolizing enzymes by DDT and its analogs. Arch. Exp. Pathol. Pharmacol., 249: 486-500 (1965).
18. HOLUB, M., ROSSMAN, P., TLASKALOVA, H. and VIDMAROVA, H.: Thymus rudiment of the athymic nude mouse. Nature London, 256: 491-493 (1975).
19. INSTITUTE OF LABORATORY ANIMAL RESOURCES: Guide for the care and use of laboratory animals. National Research Council, Government Printing Office, Washington, D.C. 1974.
20. INTERNATIONAL COMMITTEE ON LABORATORY ANIMALS: International Standardized Nomenclature for Outbred Stocks of Laboratory Animals. ICLA Bull. 30 (1972).
21. JONAS, A.M.: Laboratory animal facilities. J. Am. Vet. Med. Assoc., 146: 600-606 (1965).
22. JORI, A., BIANCHETTI, A. and PRESTINI, P.E.: Effect of essential oils on drug metabolism. Biochem. Pharmacol., 18: 2081-2085 (1969).
23. KLEIN, J.: Biology of the mouse histocompatibility-2 complex. Springer Verlag, New York, 1975.
24. KOLMODIN, B., AZARNOFF, D.L. and SJOQVIST, F.: Effect of environmental factors on drug metabolism: decreased plasma half-life of antipyrine in workers exposed to chlorinated hydrocarbon insecticides. Clin. Pharmacol. Ther., 10: 638-642 (1969).
25. LAIR, S.V., LOZZIO, B.B. and MACHADO, A.E.: Hereditarily athymic-asplenic mice: a new model for the heterotransplantation of human malignancies. IRCS Med. Sci. Suppl., 3: 15 (1975).
26. LANE-PETTER, W. and PORTER, G.: Notes for breeders of common laboratory animals. Academic Press, London and New York, 1962.

27. LANE-PETTER, W. and PEARSON, A.E.G.: The laboratory animals: principles and practice. Academic Press, London and New York, 1971.
28. LANG, C.M. and VESELL, E.S.: Environmental and genetic factors - affecting the response of laboratory animals. Fed. Proc., 35: 1125-1132 (1976).
29. LANG, C.M. and VESELL, E.S.: Environmental and genetics factors affecting laboratory animals: impact on biomedical research. Fed. Proc., 39: 736-737 (1976).
30. LEY, F.J., BLEBY, J., COATES, M.E. and PATTERSON, J.S.: Sterilization of laboratory animals diets using gamma radiation. Lab. Anim., 3: 221-254 (1969).
31. LUMB, W.: Small animal anesthesia. Lea and Febiger, Philadelphia, 1963.
32. MILLER, E.V., BEN, M.V. and Cass, J.S.: Comparative anesthesia in laboratory animals. Fed. Proc., 28: 1369-1386 (1969).
33. MITRUKA, B.M.: Animals for medical research. Models for the study of human disease. John Wiley and Sons, Inc., Philadelphia, - 1976.
34. NATIONAL ACADEMIC OF SCIENCES: Control of diets in laboratory animal experimentation. A report of the Committee on Laboratory Animals resources. Washington, D.C., 1978.
35. NATIONAL ACADEMIC OF SCIENCES: Guide for the care and use of - the nude (thymus-deficient) mouse in biomedical research. ILAR News, 19: M1-M20 (1976).
36. NATIONAL ACADEMIC OF SCIENCES: Laboratory animal management: - genetics. ILAR News, 23(1): A1-A16 (1979).
37. NATIONAL ACADEMIC OF SCIENCES: Laboratory animal management: - rodents. ILAR News, 20 (3): L1-L15 (1977).
38. NATIONAL ACADEMIC OF SCIENCES: Long-term holding of laboratory rodents. ILAR News, 19 (4): L1-L25 (1976).
39. NATIONAL ACADEMIC OF SCIENCES: Nutrient requirements of rabbits. National Academic of Sciences, Washington, D.C., 1977.
40. NATIONAL ACADEMIC OF SCIENCES: Procurement specification (Contract clause). Rabbits. ILAR VIII: 1-9 (1969).

41. NATIONAL ACADEMIC OF SCIENCES: Procurement specification (Contract clause). Rodents. ILAR, VII: 1-10 (1969).
42. NATIONAL ACADEMIC OF SCIENCES: Standards for the breeding, care and management of laboratory rabbits. ILAR, 1-11 (1967).
43. NATIONAL ACADEMIC OF SCIENCES: Spontaneously hypertensive (SHR) rats: guidelines for breeding, care and use. ILAR News, 19(3): G1-G20 (1976).
44. PANTELOURIS, E.M.: Absence of thymus in a mouse mutant. Nature London, 217: 370-371 (1968).
45. POILEY, S.M.: A systematic method of breeder rotation for non-inbreed laboratory animal colonies. Proc. Anim. Care, 10:159-166 (1960).
46. POLAND, A.D., SMITH, D. and JACOBSON, M.: Effect of intensive occupational exposure to DDT on phenylbutazone and cortisol metabolism in human subjects. Clin. Pharmacol. Ther., 11:724-732 (1970).
47. PORTER, G., SCOTT, P. and WALKER: Caging standards for rats and mice: recommendations by Laboratory Animal Science Association working party on caging and penning. Lab. Anim., 4: 61 (1970).
48. RUSSELL, R. and SCHILLING, P.: The rabbit. Selected Topics in Laboratory Animal Medicine. Vol. XXI. USAF School of Aerospace Medicine, 1973.
49. RYGAARD, J. and POLVSEN, C.: Proceedings of the first international workshop on nude mice. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1974.
50. SAZ, A. and MARMUR, J.: The inhibition of organic nitroreductase by aureomycin in cell free extracts (20244). Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 82:783-784 (1953).
51. SCHILLING, P. El Ratón. Temas Seleccionados sobre la Medicina de los Animales de Laboratorio. Escuela de Medicina Aeroespacial de la Fuerza Aérea de los Estados Unidos, O.P.S., 1974.
52. SCHLANGER, G.: Spontaneous hypertension in laboratory animals. J. Hered., 63: 35-38 (1972).
53. SEN, S., HOFFMAN, G. and STOWE, N.: Erythrocytosis in SHR. J. Clin. Invest., 51: 710-714 (1972).
54. STAATS, J.: Standardized nomenclature for inbreed strains of mice: 6th listing. Cancer Res., 36: 4333-4377 (1976).

55. UFAW. The UFAW handbook on the care and management of laboratory animals. 5th ed. Churchill, Livingstone, 1976.
56. U.S. DEPARTMENT OF HEALTH, EDUCATION and WELFARE: Laboratory Animal Records. Public Health Service. National Institute of Health, U.S., 1979.
57. VESELL, E., LANG, C., White, W., PASSANANTI, G. and TRIPP, S.: Hepatic - drug metabolism in rats: impairment in a dirty environment. Science, 179: 896-897 (1973).
58. VESELL, E.: Induction of drug metabolizing enzymes in liver microsomes of mice and rats by softwood bedding. Science, 157: 1057-1058 (1967).
59. WEIHE, W.: Temperature and humidity climatograms for rats and mice. Lab. Anim. Care, 15: 18-28 (1965).
60. WEIHE, H.: The significance of the physical environment for the health and state of adaptation of laboratory animals. National - Academic of Sciences, Washington, D.C.,
61. WEISBROTH, S., FLATT, R. and KRAUS, A.: The biology of Laboratory Rabbit. Academic Press, London and New York, 1975.
62. WHEELER, L., SODERBERG, F. and GOLMAN, P.: The in vitro reduction of compounds containing the nitro group: its relation to the character of the intestinal microflora (2959). Fed. Proc., 34: 742 (1975).
63. WILLIAMS, F., CHRISTIE, R., JOHNSON, D. and WHITNEY, R.: A new autoclave system for sterilizing vitamin-fortified commercial rodents - diets with lower nutrient loss. Lab. Anim. Care, 18: 195-199 (1968).
64. WORTIS, H.: Immunological studies of nude mice. Contemp. Top. Immunobiol., 3: 243-263 (1974).
65. ZACHARIAH, P. and JUCHAU, M.: The role of gut flora in the reduction of aromatic nitro-groups. Drug Metab. Dispos., 2: 74-78 (1974).