

88  
2ej.

**MANUAL AALAS PARA ENTRENAMIENTO DE TECNICOS EN  
ANIMALES DE LABORATORIO.**

**Tesis Presentada ante la  
División de Estudios Profesionales de la  
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la  
Universidad Nacional Autónoma de México**

**Para la obtención del título de  
Médico Veterinario Zootecnista**

**por**

**Rosa Eugenia Soriano Rosales**

**Asesores:**

**M.V.Z., MSc., Rafael Hernández González**

**M.V.Z., Ramón García Cortés**

**México, D.F.**

**1997**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



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.

## DEDICATORIA

### A mis Padres

Dr. Francisco Soriano Ambríz y Rosa Ma. Rosales de Soriano. Con cariño, por la confianza y el ejemplo que siempre me han dado.

### A mi Esposo

Ing. Luis Eduardo Loyo Marentes .Con cariño, por valorar y darme el apoyo necesario para lograr este trabajo.

### A mis Hijos

Luis E. Loyo Soriano y Francisco G. Loyo Soriano. Con todo el amor que una madre tiene a sus hijos, que con una gran paciencia supieron esperar el tiempo que duró mi trabajo y sobre todo con la ilusión de que logren superar los esfuerzos de sus padres.

### A mis Hermanos

Ivonne, Patty, Lorena y Paco. Por la unión, el cariño y apoyo que siempre me han demostrado.

A mi familia política . Por el interés y apoyo brindado.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis Asesores

M.V.Z., Msc. Rafael Hernández González.

M.V.Z. Ramón García Cortes

Por la dirección profesional, tiempo e interés que me brindaron.

A mi Jurado

M.V.Z., LAMS. Ciro Lomelí y Flores.

M.V.Z. Carlos Tena Betancourt.

M.V.Z. Jorge Hernández

M.V.Z. Arturo Carmona Mancilla.

Por su apoyo y valiosos conocimientos.

# **MANUAL AALAS PARA ENTRENAMIENTO DE TECNICOS EN ANIMALES DE LABORATORIO.**

## **CONTENIDO**

	<u><b>Página</b></u>
<b>RESUMEN</b>	<b>1</b>
<b>INTRODUCCION</b>	<b>2</b>
<b>INDICE SECCION I</b>	
<b>UNIDAD 1</b>	
<b>INTRODUCCION AL CUIDADO DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO.</b>	
<b>CAPITULO UNO</b>	
<b>HISTORIA Y PROPOSITOS DE LAS CIENCIAS DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO Y DE LOS PROGRAMAS DE CUIDADOS VETERINARIOS</b>	<b>10</b>
<b>LA EXPERIMENTACION ANIMAL</b>	<b>11</b>
<b>AALAS</b>	<b>11</b>
<b>OTRAS ASOCIACIONES RELACIONADAS CON EL CUIDADO DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO</b>	<b>12</b>
<b>EL PAPEL DEL AUXILIAR TECNICO DE ANIMALES DE LABORATORIO EN LA INVESTIGACION</b>	<b>12</b>
<b>ASPECTOS ETICOS DEL USO DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO</b>	<b>17</b>
<b>CAPITULO DOS</b>	
<b>EL AMBIENTE PROFESIONAL DEL BIOTERIO</b>	<b>19</b>
<b>LOS PROGRAMAS DE INVESTIGACION</b>	<b>19</b>
<b>MIEMBROS DEL EQUIPO</b>	<b>20</b>
<b>COMITE INSTITUCIONAL PARA EL CUIDADO Y USO DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO</b>	<b>21</b>
<b>EL PROTOCOLO</b>	<b>23</b>
<b>COMUNICACION Y ESPIRITU DE EQUIPO</b>	<b>23</b>

	<u>Página</u>
LEGISLACIONES FEDERALES LOCALES Y ESTATALES ASI COMO LINEAMIENTOS GENERALES	23
OPORTUNIDADES DE EMPLEO	27
<b>Unidad 2</b>	
<b>BASES CIENTIFICAS PARA EL AUXILIAR TECNICO</b>	
<b>CAPITULO TRES</b>	
<b>INTRODUCCION A LA CIENCIA</b>	<b>31</b>
TERMINOLOGIA CIENTIFICA SELECCIONADA	31
PRINCIPIOS BASICOS DE QUIMICA	33
PESOS Y MEDIDAS	34
<b>CAPITULO CUATRO</b>	
<b>ESTRUCTURA DE LA CELULA Y DE LOS TEJIDOS</b>	<b>36</b>
ANATOMIA Y FISIOLOGIA	36
ORGANIZACION DEL CUERPO	36
COMPRENDIENDO LAS DESCRIPCIONES ANATOMICAS	39
ORGANIZACION ANATOMICA GENERAL	39
<b>CAPITULO CINCO</b>	
<b>LOS ORGANOS Y LOS SISTEMAS</b>	<b>43</b>
SISTEMA TEGUMENTARIO	43
SISTEMA ESQUELETICO	44
SISTEMA MUSCULAR	50
SISTEMA CIRCULATORIO	51
SISTEMA LINFATICO	59
SISTEMA RESPIRATORIO	60
SISTEMA DIGESTIVO	63
SISTEMA URINARIO	69
APARATO REPRODUCTOR	73
SISTEMA NERVIOSO	73

	<u>Página</u>
SISTEMA ENDOCRINO	75
<b>CAPITULO SEIS</b>	
<b>ALIMENTOS Y ALIMENTACION</b>	<b>79</b>
DIGESTION	79
LOS NUTRIENTES	79
ENERGIA METABOLIZABLE	81
AVALUACION DEL ALIMENTO	82
SELECCION DEL ALIMENTO	82
ASPECTOS PRACTICOS DE ALIMENTACION	84
MANEJO DE ALIMENTO Y DEL LUGAR DE ALMACENAMIENTO	86
<b>UNIDAD 3</b>	
<b>REPRODUCCION Y CRUZAMIENTOS</b>	
<b>CAPITULO SIETE</b>	
<b>HERENCIA Y REPRODUCCION</b>	<b>89</b>
GENES Y CROMOSOMAS	89
REPRODUCCION	91
ESQUEMAS DE CRUZAMIENTO	91
NOMENCLATURA DE CEPAS Y DE POBLACIONES EXOGAMICAS	92
FORMAS DE APAREAMIENTO	93
MANTENIMIENTO DE ANIMALES REPRODUCTORES	94
IDENTIFICACION DE LOS ANIMALES	95
<b>CAPITULO OCHO</b>	
<b>EL RATON</b>	<b>102</b>
CONDUCTA	102
ALOJAMIENTO	104
ALIMENTACION	104
SUJECION E INMOBILIZACION	105
SEXADO Y REPRODUCCION	105

	<u>Página</u>
<b>CAPITULO NUEVE</b>	
<b>LA RATA</b>	<b>110</b>
CONDUCTA	110
ALOJAMIENTO	110
ALIMENTO	111
SUJECION E INMOBILIZACION	111
SEXADO Y REPRODUCCION	111
<b>CAPITULO DIEZ</b>	
<b>HAMSTERS. COBAYOS Y OTROS ROEDORES</b>	<b>113</b>
HAMSTERS	113
COBAYOS	118
OTROS ROEDORES	121
<b>CAPITULO ONCE</b>	
<b>EL CONEJO DE LABORATORIO</b>	<b>122</b>
CONDUCTA	122
ALOJAMIENTO	123
ALIMENTACION	123
SUJECION E INMOBILIZACIÓN	125
SEXADO Y REPRODUCCION	126
<b>CAPITULO DOCE</b>	
<b>EL GATO</b>	<b>129</b>
CONDUCTA	129
ALOJAMIENTO	129
ALIMENTACION	129
SUJECION E INMOBILIZACIÓN	130
SEXADO Y REPRODUCCION	131
<b>CAPITULO TRECE</b>	
<b>EL PERRO</b>	<b>135</b>
CONDUCTA	135



	<u>Página</u>
ALOJAMIENTO	135
ALIMENTACION	136
SUJECION E INMOBILIZACIÓN	137
SEXADO Y REPRODUCCION	138
<b>CAPITULO TORCE</b>	
<b>PRIMATES NO HUMANOS</b>	<b>143</b>
CONDUCTA	143
ALOJAMIENTO	144
ALIMENTACION	145
SUJECION E INMOBILIZACIÓN	146
SEXADO Y REPRODUCCION	147

#### **UNIDAD 4**

#### **MEDIO AMBIENTE, EQUIPO E HIGIENE**

<b>QUINCE</b>	
<b>EL AMBIENTE DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO</b>	<b>157</b>
LOS CUARTOS DE LOS NIMALES	157
CORREDORES Y CIRCUITOS DE TRAFICO	161
SEGURIDAD DEL BIOTERIO	162
CUARTOS DE LAVADO	164
AREAS DE CUARENTENA. ACONDICIONAMIENTO Y AISLAMIENTO	164
ALMACEN DE ALIMENTO Y MATERIAL DE CAMA	165
ALMACEN DEL EQUIPO	165
AREAS PARA EL PERSONAL	165
CUARTOS DE PROCEDIMIENTOS	165
PLANTA DE EMERGENCIA	165
AGENTES PELIGROSOS	166
ELIMINACION DE CADAVERES	170

	<b>Página</b>
ALOJAMIENTO - MICROAMBIENTE EN EL CUARTO DE LOS ANIMALES	170
MATERIAL DE CAMA	170
<b>CAPITULO CAPITULO DIECISEIS</b>	
<b>EQUIPO DEL BIOTERIO</b>	177
CONFINAMIENTO PRIMARIO	177
ACCESORIOS PARA ALIMENTACION Y SUMINISTRO DE AGUA	181
EQUIPO PARA LAVADO DE CAJAS	182
INSTRUMENTOS DE MEDICION	183
<b>CAPITULO DIECISIETE</b>	
<b>LA HIGIENE EN EL BIOTERIO</b>	195
ESTERILIZACION	195
DESINFECCION	196
SANITIZACION	196
MONITOREO AMBIENTAL	198
TECNICAS DE LIMPIEZA DEL EQUIPO	198
LIMPIEZA DEL CUARTO DE LOS ANIMALES	199
CONTROL DE PLAGAS	199
SEGURIDAD E HIGIENE DEL PERSONAL	200
<b>UNIDAD 5</b>	
<b>SIGNOS DE ENFERMEDAD Y PREVENCIÓN</b>	
<b>DE LAS ENFERMEDADES</b>	
<b>CAPITULO DIECIOCHO</b>	
<b>OBTENCION DE LOS ANIMALES</b>	206
LA TRANSPORTACION	207
CONDICION MICROBIOLÓGICA	208
RECEPCION Y EXAMEN FISICO DE LOS ANIMALES	210
CUARENTENA Y ACONDICIONAMIENTO	210
MANTENIMIENTO DEL ESTADO DE SALUD	211

	<b>Página</b>
<b>CAPITULO DIECINUEVE</b>	
<b>ESTADO DE SALUD ANIMAL Y ENFERMEDAD</b>	<b>214</b>
IDENTIFICACION DE ENFERMEDAD	214
SIGNOS DE ENFERMEDAD	216
CAUSAS DE ENFERMEDAD	220
TRANSMISION DE ENFERMEDADES	225
PREVENCION DE ENFERMEDADES	226
<b>CAPITULO VEINTE</b>	
<b>QUIMIOTERAPIA Y ENFERMEDADES COMUNES DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO</b>	<b>229</b>
TIPOS DE MEDICAMENTOS	229
METODOS Y DOSIFICACION DE DROGAS	231
TRATAMIENTOS Y MANTENIMIENTO DE REGISTROS DE ENFERMEDADES	232
ENFERMEDADES DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO	235
<b>UNIDAD 6</b>	
<b>TECNICAS QUIRURGICAS Y EXPERIMENTALES</b>	
<b>CAPITULO VEINTIUNO</b>	
<b>CIRUGIA</b>	<b>236</b>
FUNCION DE LA SALA DE OPERACIONES	236
CUIDADOS PREQUIRURGICOS Y POSTQUIRURGICOS	243
EVALUACION DE DOLOR Y DIESTRES	244
CUIDADOS EN EMERGENCIA	246
<b>CAPITULO VEINTIDOS</b>	
<b>EUTANASIA</b>	<b>248</b>
PERCEPCION DEL DOLOR	248
METODOS DE EUTANASIA	249
<b>CAPITULO VEINTITRES</b>	
<b>DISEÑO EXPERIMENTAL Y METODOLOGIA</b>	<b>253</b>
EL PROYECTO DE INVESTIGACION	253
CONTROLES Y VARIABLES EXPERIMENTALES	254
MODELOS ANIMALES	255
METODOLOGIA DE LA INVESTIGACION	256

**LISTA DE ILUSTRACIONES SECCION I**

**Fig. Número.**

1.1 Distribución de obligaciones	13
1.2 Mantenimiento de buenos registros	16
2.1 Comité institucional para el cuidado y uso de los animales de laboratorio	22
4.1 Esquema de una célula	38
4.2 Descripción de características anatómicas	41
5.1 Esqueleto de rata	45
5.2 Columna vertebral	49
5.3 Corazón de mamífero (corte transversal)	56
5.4 Sistema circulatorio de la rata	57
5.5 Sistema circulatorio de los mamíferos	58
5.6 Anatomía del pulmón de mamífero	62
5.7 Los cuatro compartimientos gástricos del rumiante	66
5.8 Localización de los órganos en los mamíferos	67
5.9 Riñón (corte transvesal)	70
5.10 Anatomía del aparato urogenital de la rata hembra	71
5.11 Anatomía del aparato urogenital de la rata macho	72
5.12 Células nerviosas	74
5.13 Sistema endócrino de los mamíferos	76
6.1 Dietas comerciales	88
7.1 Tarjeta de registro típico de una caja	97
7.2 Sistema de perforación de orejas de los roedores	98
7.3 Tatuaje en la oreja	100
8.1 Roedor rasurado	103
8.2 Manejo de ratones con pinzas	106
8.3 Inmovilización del ratón	107
8.4 Dispositivo de plástico para inmovilizar roedores	108
8.5 Sexado del ratón	109
9.1 Inmovilización de la rata	112

	<b><u>Página</u></b>
10.1 Transporte de hámster	115
10.2 Inmovilización de hámster	116
10.3 Sexado de hámster	117
10.4 Transporte e inmovilización de cobayos	120
11.1 Caja de conejo con alimentador "J"	124
11.2 Transporte del conejo	127
11.3 Transporte e inmovilización del conejo	128
12.1 Sujeción e inmovilización de un gato	132
12.2 Sujeción e inmovilización de un gato	133
12.3 Inmovilización de un gato en recumbencia lateral	134
13.1 Cargado y sujeción de un perro tranquilo	139
13.2 Inmovilización de un perro con mordaza	140
13.3 Inmovilización de un perro para inyección intravenosa	141
13.4 Inmovilización de un perro en recumbencia lateral	142
14.1 Caja para inmovilización de primates	149
14.2 Inmovilización de un primate con barra y collar	150
14.3 Inmovilización manual de un primate	151
15.1 Bioterio con barreras y corredores limpio y sucio	163
15.2 Identificación de material peligroso y radiactivo	167
15.3 Diagrama de un bioterio con control de bioseguridad	169
16.1 Cajas en forma de cajas de zapato	184
16.2 Anaqueles con cajas suspendidas	185
16.3 Anaquel con cajas de apertura frontal	186
16.4 Caja metabólica	187
16.5 Caja de cartón para envío de roedores	188
16.6 Microaislador con filtro en el techo	189
16.7 Campana de flujo laminar para el manejo de microaisladores	190
16.8 Comedero tipo "J"	191
16.9 Válvula para sistema automático de bebederos	192

	<u>Página</u>
16.10 Máquina para lavado de cajas	193
16.11 Balanza electrónica	194
17.1 Autoclave	204
17.2 Guantes de piel para manejo de primates	205
18.1 Mantenimiento de animales convencionales y libres de gérmenes	209
18.2 Cuarentena para animales	213
19.1 Rata enferma	217
20.1 Técnica de administración intragástrica	233
20.2 Registro de animales sanos	234
21.1 Instrumental quirúrgico	239
21.2 Máquina de anestesia gaseosa	247
22.1 Cámara para anestesia gaseosa o eutanasia	251
22.2 Cámara para eutanasia con dióxido de carbono	252
23.1 Grupos control y experimental	262

## LISTA DE TABLAS SECCION I

<b>Fig. No.</b>	<b>Tema</b>	<b><u>Página</u></b>
3.1	Algunos Prefijos, raíces y sufijos científicos con sus significados	32
3.2	Conversiones del sistema métrico decimal al sistema Inglés	35
4.1	Términos anatómicos para dirección y posición	42
14.1	Datos reproductivos y características de las principales especies de laboratorio	152
14.2	Características de animales de granja usados en el laboratorio	156
15.1	Recomendaciones de humedad relativa y temperatura de bulbo seco para las especies más comunes de animales de laboratorio	158
15.2	Recomendaciones de espacio mínimo para los animales de laboratorio	173
19.1	Cuadro comparativo de algunas propiedades de organismos causantes de enfermedad	223

# INDICE SECCION II

## TECNOLOGO EN ANIMALES DE LABORATORIO

### UNIDAD 1

#### ADMINISTRACION Y DIRECCION

	<u>Página</u>
<b>CAPITULO UNO</b>	
<b>FUNCIONES DE LA DIRECCION DEL BIOTERIO</b>	<b>263</b>
PLANEACION	265
ORGANIZACION	266
DIRECCION	269
CONTROL	279
MANEJO DE PERSONAL	283
<b>CAPITULO DOS</b>	
<b>IDENTIFICACION Y CONTROL DE COSTOS</b>	<b>288</b>
CONTABILIDAD	288
EL ANILISIS DE COSTOS Y DE PRESUPUESTO	293
<b>CAPITULO TRES</b>	
<b>REGULACIONES Y SEGURIDAD</b>	<b>297</b>
ASPECTOS LEGISLATIVOS Y DE REGULACION	297
MEDIDAS DE PROTECCION Y DE SEGURIDAD EN EL BIOTERIO	299

### UNIDAD 2

#### BASES BIOLÓGICAS PARA LA COMPRENSION DE LA CIENCIA DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO

<b>CAPITULO CUATRO</b>	
<b>ESTRUCTURA Y FUNCION DE LAS CELULAS Y LOS TEJIDOS</b>	<b>304</b>
LAS CELULAS	304
LOS TEJIDOS	317
<b>CAPITULO CINCO</b>	
<b>PARTICULARIDADES ANATOMICAS DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO</b>	<b>322</b>
EL RATON	322
LA RATA	323
EL HAMSTER SIRIO	326
EL COBAYO	327



	<u>Página</u>
EL CONEJO	328
EL GATO	329
EL PERRO	330
LOS PRIMATES NO HUMANOS	330

### UNIDAD 3 CRIANZA Y REPRODUCCION

<b>CAPITULO SEIS</b>	
<b>GENETICA Y REPRODUCCION</b>	<b>332</b>
PATRONES DE HERENCIA	332
CRUZAMIENTOS Y REPRODUCCION	339
PROGRAMAS DE CRUZAMIENTO PARA RATONES	342
FISIOLOGIA REPRODUCTIVA DE RATAS Y RATONES	345
<b>CAPITULO SIETE</b>	
<b>ANIMALES DE LABORATORIO USADOS CON POCA FRECUENCIA.</b>	
ARMADILLO	347
MURCIELAGO	351
CHINCHILLA	354
HURON	356
ZARIGÜEYA	358
PERROS DE LA PRADERA	360
MARMOTA	362
PRIMATES NO HUMANOS	363

### UNIDAD 4 EL ENTORNO DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO

<b>CAPITULO OCHO</b>	
<b>ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD</b>	<b>369</b>
REGLAMENTOS PARA LAS BUENAS PRACTICAS DE LABORATORIO	370
LA APROXIMACION HOLISTICA PARA EL ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD	373
<b>CAPITULO NUEVE</b>	
<b>SEGURIDAD DEL PERSONAL DEL BIOTERIO</b>	<b>392</b>
SALUD DEL EMPLEADO	392
PROTECCION DEL PERSONAL	397
VALORACION DE RIESGOS	401

	<u>Página</u>
MEDIDAS DE SEGURIDAD	403
MANEJO DE DESECHOS	406
EMERGENCIAS Y PRIMEROS AUXILIOS	411
<b>CAPITULO DIEZ</b>	
<b>DESINFECCION E HIGIENE</b>	<b>414</b>
DESINFECTAR O DESCONTAMINAR	414
HIGIENE DEL PERSONAL	419

## Unidad 5 SALUD ANIMAL

<b>CAPITULO ONCE</b>	
<b>PRINCIPIOS DE SALUD</b>	<b>423</b>
OBTENCION DE ANIMALES SANOS	423
CONSERVACION DE LA SALUD ANIMAL	428
<b>CAPITULO DOCE</b>	
<b>GNOTOBIOLOGIA</b>	<b>434</b>
EQUIPO PARA EL MANTENIMIENTO DE ANIMALES GNOTOBIOTICOS	434
ESTERILIZACION	439
METODOLOGIA PARA GNOTOBIOTICOS	439
<b>CAPITULO TRECE</b>	
<b>ENFERMEDADES INFECCIOSAS</b>	<b>444</b>
BACTERIAS	444
HONGOS	447
VIRUS	449
PARASITOS	452
CONTROL Y PREVENCION DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS	480
<b>CAPITULO CATORCE</b>	
<b>INMUNOLOGIA</b>	<b>482</b>
EL SISTEMA INMUNE	484
COMPONENTES HUMORALES DEL SISTEMA INMUNE	487
RESPUESTA INMUNE	489
TIPOS DE INMUNIZACION	492
ENFERMEDADES DEL SISTEMA INMUNE	492

	<u>Página</u>
<b>CAPITULO QUINCE</b>	
<b>TECNICAS DE DIAGNOSTICO</b>	<b>494</b>
PARASITOLOGIA	494
HEMATOLOGIA	497
SEROLOGIA	506
MICROBIOLOGIA	508
NECROPSIA	510
HISTOPATOLOGIA	511
UROANALISIS	514
QUIMICA SANGUINEA	515
RADIOLOGIA Y RADIACION	518
<b>CAPITULO DIECISEIS</b>	
<b>FARMACOLOGIA</b>	<b>532</b>
MECANISMO DE ACCION DE LAS DROGAS	532
CLASIFICACION DE LAS DROGAS	533
RUTAS DE ADMINISTRACION	535
FORMAS DE DOSIFICACION	540
FACTORES QUE AFECTAN LA RESPUESTA A LAS DROGAS	542
USO TERAPEUTICO DE LAS DROGAS	543
DISTRIBUCION Y ELIMINACION DE DROGAS	544
DROGAS O SUSTANCIAS CONTROLADAS	545
<b>CAPITULO DIECISIETE</b>	
<b>ENFERMEDADES COMUNES DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO Y SU TRATAMIENTO</b>	<b>547</b>
RATAS Y RATONES	547
COBAYOS	550
CONEJOS	550
PERROS	552
GATOS	554
PRIMATES NO HUMANOS	555
RUMIANTES	557
CABALLOS	558
CERDOS	558
RANAS	559

**Unidad 6**  
**TECNICAS EXPERIMENTALES**

<b>CAPITULO DIECIOCHO</b>	
<b>ANESTESIA</b>	<b>561</b>
CALCULO DE LA DOSIS	561
VALORACION DE LA ANESTESIA GENERAL	563
PREANESTESICOS	565
ANESTESICOS INYECTABLES	566
SISTEMAS DE ANESTESIA INHALADA	569
ANESTESICOS INHALADOS	577
BLOQUEADORES NEUROMUSCULARES	579
ANALGESICOS	580
CUIDADOS POSTANESTESICOS Y DE EMERGENCIA	581
<b>CAPITULO DIECINUEVE</b>	
<b>LA EXPERIMENTACION CIENTIFICA</b>	<b>591</b>
MODELOS ANIMALES	591
DISEÑO EXPERIMENTAL	592
VARIABLES EXPERIMENTALES Y SU CONTROL	593
<b>CAPITULO VEINTE</b>	
<b>ESTADISTICA</b>	<b>597</b>
TEORIA DE LA DISTRIBUCION	597
ESTADISTICA DESCRIPTIVA	599
PROBABILIDAD	610
MUESTREO AL AZAR	614
INFERENCIA ESTADISTICA	615
TAMAÑO DE LA MUESTRA	617

## LISTA DE ILUSTRACIONES SECCION II

<b>Fig. No.</b>	<b>Tema</b>	<b><u>Página</u></b>
1.1	Distribución de conocimientos y habilidades del personal técnico del bioterio	264
1.2	jerarquía de las necesidades según Maslow	270
1.3	Listas diarias y semanales de actividades por realizar	275
2.1	El procedimiento para la disminución de costos	291
4.1	La bicapa de lípidos	306
4.2	Modelos de osmosis	308
4.3	Relaciones osmóticas	310
4.4	Modelo de transporte activo	313
5.1	Estructuras uterinas comunes de los animales de laboratorio	325
6.1	Genes ligados al sexo	336
6.2	mandíbula de ratón	338
9.1	Mascarilla protectora con filtros	395
9.2	Gabinets para el manejo de riesgos biológicos	399
9.3	Sistema para eliminar material de cama	408
11.1	Forma No.18-6 del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos para los proveedores y compradores de perros y gatos	433
12.1	Aislador de paredes flexibles	436
12.2	Manga de transferencia	438
13.1	Tipos de bacterias encontradas en animales de laboratorio	445
13.2	Tamaños relativos de microbios encontrados en animales de laboratorio.	448
13.3	Tipos de protozoarios	467
13.4	Ciclo de vida de esporozoos (Toxoplasma sp.)	468
13.5	Ciclo de vida de tremátodos	470
13.6	Ciclo de vida de cestodos	472
13.7	Ciclo de vida de nemátodos	477
13.8	Variedades de huevos de nemátodos	478
14.1	Respuesta inmune demostrada por Luis Pasteur	483

	<u>Página</u>
14.2 Respuestas inmunes primarias y secundarias	491
15.1 cuadrícula de un hemocitómetro	501
15.2 Posiciones anatómicas comunes para toma de radiografías y su referente anatómico	521
18.1 Máquina anestésica de circuito cerrado	572
18.2 Sistema anestésico de circuito abierto	576
20.1 Curva de distribución normal	598
20.2 Gráficas de clases de distribución para la ganancia de peso en ratones	599
20.3 Curva de distribuciones bimodal	600
20.4 Curva de distribución sesgada	601
20.5 Curva en forma de ojiva para distribución acumulada	603
20.6 Curva de probabilidad obtenida en papel semilogaritmico	604
20.7 Percentiles de una distribución normal	606
20.8 Gráfica de variaciones alrededor de la media	608
20.9 Tres curvas de distribución normal con diferente desviación estándar	609
20.10 Curva de distribución normal con valores y probabilidades obtenidas de las proporciones de las áreas bajo la curva	611
20.11 Curva de distribución normal en la cual en el eje de las X's se muestra la media, un factor y la desviación estándar	612

## LISTA DE TABLAS

No.	Tema	<u>Página</u>
4.1	Gradientes de concentración a través de la membrana plasmática	311
6.1	No. de cromosomas en los animales de laboratorio comunes	334
6.2	El sistema Robertson de mínima consanguinidad	344
6.3	Identificación de las etapas del ciclo estral	346
7.1	Datos morfológicos y fisiológicos de los animales de laboratorio	349
7.2	Nomenclatura de los primates no humanos	367
7.3	Duración del ciclo estral de los primates no humanos	368
8.1	Número de animales que deben ser muestreados para detectar al menos un animal infectado por virus en una colonia de más de 100 animales	380
8.2	Agentes causales de enfermedades que no deben estar presentes en una colonia de conejos libres de patógenos específicos	382
10.1	Aplicación de agentes antimicrobianos	421
13.1	DNA virus de roedores de laboratorio	450
13.2	RNA virus de roedores de laboratorio	451
13.3	Parásitos y su localización en el hospedero	454
13.4	Diferenciación de microfilarías entre Dipetalonema y Dirofilaria en una prueba de Knotts	476
14.1	Células y componentes solubles en sistemas inmunes inatos y sistemas inmunes adquiridos	485
15.1	Valores normales de una biometría hemática	499
15.2	Valores celulares normales de la sangre	503
15.3	Técnicas de tinción histológica comunes y sus usos	513
15.4	Pruebas comunes de química sanguínea	516
15.5	Procedimientos especiales de radiografía	531
16.1	Tiempos promedio de acción de una droga administrada por diferentes rutas	539
18.1	Dosis de drogas inyectables para sedación, analgesia y anestesia	585
18.2	Dosis de drogas utilizadas en anestesia por inmersión en un líquido	590
18.3	Dosis de anestésicos inhalados	590
20.1	Cálculo de probabilidades	613

20.2 Diseño de un experimento factorial

ANALISIS DE LA INFORMACION

LITERATURA CITADA

Página

616

620



## RESUMEN

SORIANO ROSALES, ROSA EUGENIA. Manual AALAS para entrenamiento de Técnicos en Animales de Laboratorio (bajo la dirección de: Rafael Hernández González y Ramón García Cortés).

Se revisó la información existente en: Manuales, libros y revistas especializadas, enfocándose principalmente al manual para auxiliares y técnicos en animales de laboratorio de la Asociación Americana para la Ciencia de los Animales de Laboratorio (AALAS).

Una vez traducida la información se organizó en un manual especializado en el idioma español, dirigido a técnicos y personal que carecen de educación media básica y media superior, que tienen contacto con animales de laboratorio o realizan actividades relacionadas con su cuidado, producción o aplican técnicas de experimentación en ellos. Este manual pretende proporcionar al lector los conocimientos básicos para comprender el manejo y uso apropiado de las principales especies animales utilizadas como objeto de experimentación.

## INTRODUCCION.

El bioterio de toda unidad ó centro de investigación biomédica, constituye un área fundamental, en virtud de la invaluable utilización de diferentes especies de animales como modelos experimentales y fuentes de obtención de tejidos para uso en la investigación.

El incremento del uso de animales de laboratorio y el gran esfuerzo realizado para la reproducibilidad de los resultados experimentales, tiene necesariamente que estar acompañado por un incremento en la inversión física y de recursos humanos para el correcto mantenimiento y manejo de los animales.(17,19,22).

Cada vez es mayor el número de instituciones que instalan bioterios con control ambiental, microbiológico y genético con el deseo de poner fin al uso de animales convencionales (11), sin embargo, los altos requerimientos de personal profesional y técnico especializado, la inversión inicial en estructura física y costos de operación hacen lenta la diseminación de este tipo de bioterios y la consecuente producción de animales gnotobioticos (10).

Durante muchos años se han venido utilizando en la experimentación biomédica animales producidos en criaderos particulares, instituciones oficiales o descentralizadas; sin una adecuada vigilancia técnica y por consiguiente con fallas en el control microbiológico y genético de estos, dando como resultado la producción de animales de baja calidad y uso de una mayor cantidad de animales de los requeridos para el proyecto de investigación, lo que ocasiona irregularidades en los resultados y contraposición a las prácticas internacionalmente recomendadas y aceptadas para la experimentación animal(14). La calidad de los resultados de un programa de investigación depende directamente de la calidad de los animales utilizados y la calidad de los animales depende a su vez de: lo apropiado de las instalaciones con que se cuente y de la experiencia profesional en el manejo y control que posea el personal que labora dentro del bioterio (13). En México la mayor parte del personal que labora dentro de un bioterio (Investigadores, Técnicos y Médicos Veterinarios) no ha recibido entrenamiento o capacitación escolarizada para el manejo, cuidado, producción y técnicas de experimentación en animales de laboratorio, esto se debe en gran parte a que no se cuenta con instituciones que ofrezcan regularmente este tipo de cursos, organismos de certificación de estudios y libros o manuales especializados en español ya que los pocos manuales que existen en español están incompletos y la mayoría no van dirigidos a una audiencia en especial (8,9,10,13,16,18).

Como antecedentes de un esfuerzo para proveer al personal técnico de material para su capacitación es importante mencionar la traducción del Manual para Técnicos de Laboratorio publicado por AALAS en 1967 y Editado por Por George R. Collins en los EUA, traducido al Español por el ya fallecido M.V.Z. Francisco Cartheo Reyes, quién fuera de 1981-1982 presidente de la entonces Asociación Mexicana para el Estudio de los Animales de Laboratorio (AMEAL). Así como, la traducción de una versión posterior del mismo manual publicada en 1970, realizada por el Profesor Fernando Bonilla, Secretario de la AMEAL de 1980-1981 Químico de formación y director en esa época del bioterio de la escuela Superior de Medicina del Instituto Politécnico Nacional. Ambos esfuerzos fueron importantes en su momento, sin embargo la falta de publicación de estos documentos por una casa editorial y su consecuente falta de distribución o acceso a los lectores destinatarios, los limitó a un uso prácticamente doméstico a tal punto que no se cuentan con ejemplares de este material. Por otra parte el enorme avance que ha tenido este campo a generado una continua actualización la cual ha sido resumida en posteriores ediciones de los manuales AALAS y otros documentos disponibles para capacitar al personal técnico.

Existen notas de cursos como el referente al diplomado en Ciencias de los Animales de Laboratorio, pero están dirigidos a profesionales de la Medicina Veterinaria con enfoque a la especialización, por lo que no son útiles para técnicos (15).

Debido a esto, la mayoría del personal profesional y técnico realiza su trabajo con base a la experiencia que han adquirido de los conocimientos generales sobre producción y cuidados de animales de granja que poseen (10).

Al carecer de formación especializada se producen animales que no reúnen los requisitos óptimos de calidad, lo cual puede repercutir en las investigaciones que se realicen con estos animales de manera que se obtengan resultados poco confiables, poco reproducibles y de reducida aplicación o extrapolación. Esto repercute en el efecto que pudieran tener los resultados del experimento en el conocimiento y avance de la ciencia (14).

Los técnicos encargados del cuidado de los animales de laboratorio son miembros fundamentales del equipo de investigación, ya que ellos realizan las actividades esenciales y críticas que se requieren para mantener a los animales en experimentación dentro de los niveles de calidad que requiere la salud y el bienestar de los animales. De esta forma controlan las variables indeseables e imponderables que afectan los resultados de la investigación. Algunas de éstas variables son:

- . Diferencias en los horarios y forma de realizar la limpieza.
- . Alteraciones en las condiciones de humedad, temperatura, iluminación y ruido de los alojamientos para animales.
- . Diferencias en el agrupamiento y selección de los animales.

- . Modificaciones en la superficie ó espacio físico disponible para los animales.

Si estos factores no son controlados adecuadamente sus variaciones producirán cambios fisiológicos, enfermedad y condiciones de debilidad o predisposición a enfermedades. Además los técnicos por su contacto directo con los animales están en la posición de detectar anomalías en los factores mencionados o en la salud y bienestar de los animales por lo que deben notificar al médico veterinario responsable del bioterio y al investigador cualquier anomalía para que los animales sean atendidos inmediatamente.

Es responsabilidad del técnico aprender lo más posible sobre los animales con los que trabaja y relacionarse con el campo de la ciencia de los animales de laboratorio.

El perfil educativo de un técnico debe comprender conocimientos y habilidades como:

- . Saber seguir instrucciones.
- . Realizar crítica constructiva.
- . Desarrollo eficiente del trabajo de acuerdo a los procedimientos establecidos.
- . Notificar a sus superiores las alteraciones que observe en cuanto a las condiciones ambientales, manejo y sujeción de los animales, errores en el cuidado y reproducción de los mismos o cambios de conducta y bienestar.
- . Debe comportarse con madurez, sensatez y honestidad ya que no hay lugar en el equipo de investigación para una persona indiferente, indolente o irresponsable.

Por todo lo anterior las labores del técnico deben considerarse como una labor profesional en el sentido de que se requiere un proceso educativo para que el individuo logre adquirir el perfil señalado.

En muchos países desarrollados para lograr éste objetivo, se cuenta con programas académicos que se aplican "intramuros" en la institución donde trabaja el técnico o "extramuros" a través de instituciones que imparten cursos escolarizados (6, 12, 24). Algunos de éstos han demostrado ser sumamente eficaces en el logro de sus objetivos y han logrado una aceptación nacional e internacional como es el caso del programa diseñado por la Asociación Americana para la Ciencia de los Animales de Laboratorio cuyas siglas en inglés son AALAS.

AALAS surgió en 1950 como el "Panel para el cuidado de animales" (Animal Care Panel, ACP) con el objetivo de crear una organización de profesionistas preocupada por el cuidado, producción y estudio de los animales de laboratorio.

En 1967 la ACP se transformó en la Asociación Americana para las Ciencias de los Animales de Laboratorio. AALAS es la organización más grande del mundo en su campo, agrupa a más de 6 mil miembros

principalmente de los Estados Unidos de América (EU), pero entre sus agremiados se encuentran personas de todo el mundo incluyendo profesionistas mexicanos (7).

Actualmente AALAS es el principal medio de comunicación entre individuos y organizaciones del campo de los animales de laboratorio, AALAS produce una revista científica indexada, una revista de divulgación, un boletín para personal técnico y realiza además de reuniones y congresos regionales, un congreso anual que reúne a científicos, veterinarios, técnicos, directores y comerciantes del área. Asimismo, efectúa certificación de técnicos y cuenta con 38 asociaciones locales o ramas en los EU que promueven programas educativos, AALAS cuenta con un programa educativo que permite la certificación de técnicos en tres niveles consecutivos que han sido utilizados por más de 30 años en los EU y es ampliamente aceptado y reconocido no solo en EU sino también en Canadá, Europa, Asia, Australia y Africa (7,20). En los EU la certificación es un requisito para la contratación de personal con buenos salarios y en las instituciones o compañías más prestigiadas ya que asegura que el personal técnico certificado cuenta con conocimientos y experiencia de alto nivel.

Este programa educativo y el programa de certificación aunados al desarrollo de la tecnología en el área de los animales de laboratorio ha permitido elevar la calidad de los animales utilizados en experimentación lo que ha su vez ha favorecido el desarrollo de la investigación biomédica de alto nivel, basta mencionar como ejemplo que las principales compañías farmacéuticas líderes en investigación biomédica han utilizado animales microbiológicamente y genéticamente definidos por más de 20 años (22).

La finalidad de esta tesis es adaptar y traducir el manual de entrenamiento para técnicos de AALAS, a las características de México para que este sirva como guía al personal técnico que carece de educación media y superior o que no habiendo recibido capacitación alguna, trabaja directamente con animales de laboratorio y realiza actividades relacionadas con su cuidado, producción y aplicación de técnicas de experimentación.

El manual se integrará en dos niveles ascendentes de conocimientos, lo que permitirá al inexperto obtener los conocimientos básicos en la sección I y avanzar progresivamente en sus conocimientos hasta llegar a nivel de tecnólogo equivalente a un supervisor o jefe de técnicos. A su vez la existencia del manual y su publicación, permitirá en el futuro el diseño de un programa de certificación para técnicos.

Se revizó la información existente en: Manuales, libros y revistas especializadas como, Laboratory Animal Science y Laboratory Animal, en consultas a bibliotecas de instituciones como el Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubiran" e Instituto Nacional de Pediatría, así como en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de

México. En particular se revizo el manual de AALAS, para lo cual se cuenta con su correspondiente consentimiento.

## AGRADECIMIENTOS

Muchos de los miembros de AALAS han ayudado a reunir y poner al día este manual de entrenamiento para auxiliar de técnico de animales de laboratorio. El comité ejecutivo de AALAS quiere agradecer a todos aquellos individuos y miembros de la industria, por su financiamiento o sus contribuciones editoriales que hicieron posible este manual.

Nuestro agradecimiento a los siguientes organismos y personas:

### *Contribuciones financieras:*

Abbott Laboratories, Pharmaceutical Products Division.  
Chevron Equipment Health, Inc.  
Hoechst-Roussel Pharmaceuticals, Inc.  
Hoffman-La Roche, Inc.  
Lilly Research Laboratories, Endocrinology and Central Nervous Systems.  
Marion Laboratories, Inc.  
Warner-Lambert Company, Pharmaceutical Research Division.

### *Contribuciones fotograficas:*

Edstrom Industries, Inc. (Fig. 16.9).  
Euthanex Corporation (Fig. 22.2).  
Girton Manufacturing Company, Inc. (Fig. 16.10).  
K.O.B. Associates, Inc. (Fig. 21.1).  
Lab. Products, Inc. (Fig. 16.1, 16.7 y 16.8).  
Lithgow Laboratories Services (Figure 17.2).  
Maryland Plastics, Inc. (Fig. 8.4 y 16.4).  
Miltex Instrument Company, Inc. (Fig. 21.1).  
Pharmetics, Inc. (Fig. 17.1).  
Primate Products (Fig. 14.2 y 14.3).  
Ralston Purina Company (Fig. 6.1).  
Research Equipment Company, Inc. (Fig. 11.1 y 14.1).  
St. Jude Children's Research Hospital (Fig. 15.2).  
Suburban Surgical Company, Inc. (Fig. 16.2 y 16.3).  
Summit Hill Laboratories (Fig. 21.2).  
Gerald Van Hoosier, Jr. (Fig. 12.3).

### *Coordinadores de unidad:*

Sherrill Baumgartner. Harcum Junior College, Bryn Mawr. Pennsylvania.  
Edward Csanady, Warner-Lambert Company, Ann Arbor. Michigan.  
Thomas Darby, University of Texas Health Science Center. Dallas, Texas.  
Barbara Leard. Hazleton Laboratories, Vienna, Virginia.  
Stanley Liebenberg. Department of the Army, San Carlos, California.

Douglas McBride, LaGuardia Community College, New York, New York.

*Autores principales:*

Sherill Baumgartner	Nancy Fortunato	Peter Matthews
David Carlton	Gail Heidbrink	Douglas McBride
Clayton Cisar	David Johnson	Paul Schwikert
Darlene Cox	Sally King	Thomas Darby
U. Kristina Stephens	E. Landrum Young	Greg Stickrod
Stephen Fisk	Ron Larson	Jennifer Soyke
Jane Stone	Bret Tallet	Myra Urness
Randy White		

*Autores secundarios:*

Wayne Acker	Roberta Curry	Bruce Kennedy
Alexandra Bakarick	Diane K. Dieter	Roger Lukens
Catherine Balliu	Dennis Dreher	Sandra Manetta
Kim Chapman-Winsett	Mark Garrett	Lorine Besse
Alan Chedester	Lauretta Gerrity	Lauren Nethery
Paul Cook	Gail Heidbrink	Bea Oltmann
Michele Cunmeen	Karen Hrapkiewicz	Linda Panepinto
Dale Prince	Patty Reyes	John Salig
U. Kristina Stephens	Sheldon Scher	Pat Skavlen

*Revisores:*

James Alford	Richard Fish	David Martin
Douglas Allen-Miller	Gwen Fitzgerald	James A. McGehee
Lynn Anderson	Jack Frost	John Mulder
Milton April	Jon Garcia	Lauretta Gerrity
Christian Newcomer	Dondra O'Neill	Alan Brady
Cynthia Besch-Williford	Robert Gunnels	Marian Pancoast
Marilyn Brow	Richard Knauff	Robert Russell
Janet Calpin	Joseph Knapka	Leon Lewis
Paul J. Schwikert	Max Shapiro	Thomas Darby
Terrie Cunliffe Beamer	Sandi Manetta	Richard Simmonds
J. David Small	M.C. Stillions	DeWayne Walker
U. Kristina Sthephens	Robert Weichbrod	Steven Weisbroth
William White	Revis Williams	Stephen Wightman
E. Landrum Young		

*Traducción y Adaptación al Español:*

Rosa Eugenia Soriano Rosales, Instituto Nacional de Pediatría, D.F., México.  
 Ramón García Cortés, Instituto Nacional de Pediatría, D.F., México.  
 Rafael Hernández González, Instituto Nacional de Nutrición-SZ, D.F., México.



## PREFACIO

La Asociación Americana para la Ciencia de los Animales de Laboratorio (AALAS) es una organización profesional no lucrativa de personas e instituciones preocupadas de la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Esta organización proporciona un medio para el intercambio de la información científica en todas las fases del cuidado de los animales de laboratorio y su uso a través de actividades educativas y programas de certificación.

En este manual de entrenamiento, la Sección I es una herramienta educativa básica. Fué desarrollada para educar e introducir en la ciencia de los animales de laboratorio al personal técnico. Este es un documento renovable que será puesto al día en forma regular, por lo que la información que se obtenga del uso de este manual facilitará su actualización.

La Sección I proporciona la introducción al campo de la ciencia de los animales de laboratorio. Es compatible con las especificaciones mínimas de desempeño de AALAS para los auxiliares de técnico en animales de laboratorio. Estas especificaciones incluyen aspectos administrativos, de dirección, introducción a la ciencia, salud, cuidado, manejo ambiental, desinfección, seguridad y otros aspectos relacionados con el cuidado apropiado de los animales de laboratorio.

Debido a razones prácticas la Sección I enfatiza especies, equipo y procedimientos que se encuentran de manera común en bioterios de buen nivel. La sección subsecuente de este manual proporcionará información sobre procedimientos y animales de laboratorio menos comunes y abordarán con mayor profundidad los aspectos del tecnólogo. Algunas partes de este texto cubren con un grado de profundidad más que el de un nivel introductorio los aspectos relacionados con el entrenamiento de técnicos. En estos casos se sintió que debía de cubrirse en una forma más completa un tópico en particular, tal es el caso de anatomía básica el cual es mucho mejor aprenderlo de una sola vez en una primera parte que distribuido en diferentes secciones.

Así mismo se analizó cuidadosamente el contenido de la Sección I para proporcionar sólo la información considerada para desarrollar las especificaciones de un nivel introductorio. El contenido de este manual, sin embargo no significa que sea la única fuente para el desarrollo o entrenamiento de programas que permitan la certificación a través del programa de certificación técnica de animales de laboratorio de AALAS. Existen textos especializados que están disponibles para su estudio por aquellas personas que quieren ampliar sus conocimientos más allá de los mínimos esenciales. Si en un bioterio en particular las condiciones requieren el uso de una especie animal de laboratorio diferente, se debe de proporcionar al personal, entrenamiento y las fuentes de información necesarias para el uso de técnicas o procedimientos más especializados, a fin de que los técnicos puedan desarrollar los programas de trabajo adecuadamente.

## SECCION I

### UNIDAD 1

## INTRODUCCION AL CUIDADO DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO.

Las responsabilidades del técnico en animales de laboratorio hace la carrera en ciencias de animales de laboratorio estimulante y reconfortante. Los investigadores que usan animales de laboratorio para el avance del conocimiento científico, requieren que los técnicos en animales de laboratorio mantengan estos animales bajo condiciones controladas que cumplan rigurosas especificaciones legales y de bienestar.

Los técnicos en animales de laboratorio por lo tanto, son responsables del bienestar de los animales a su cargo.

El propósito de esta primera unidad es familiarizar al personal nuevo del bioterio con aspectos históricos de la ciencia de animales de laboratorio, sus responsabilidades, rutinas de trabajo y personas con las que se relacionará dentro del bioterio. Esta unidad también es una guía para las personas que inician una carrera en las ciencias de los animales de laboratorio.

## CAPITULO UNO

### HISTORIA Y PROPOSITOS DE LAS CIENCIAS DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO Y DE LOS PROGRAMAS DE CUIDADOS VETERINARIOS

La ciencia de los animales de laboratorio comprende la información científica y técnicas relacionadas con el cuidado de los de animales de laboratorio. Esto incluye crianza, la nutrición, la conducta, la salud, la producción y el manejo de los animales de laboratorio. La medicina de los animales de laboratorio, es una especialidad de la medicina veterinaria encargada del diagnóstico, tratamiento y prevención de las enfermedades de los animales de laboratorio.

El campo de la ciencia de los animales de laboratorio ha existido y se le ha reconocido con mayor importancia desde los años 50,s en los Estados Unidos. Un grupo de individuos dedicado en aquel entonces al cuidado de los animales de laboratorio, promovió el desarrollo e intercambio de información relacionada con la medicina y el cuidado de los animales de laboratorio.

## LA EXPERIMENTACION ANIMAL

El uso continuo de animales de experimentación ha conducido al desarrollo de la ciencia de los animales de laboratorio.

Aristóteles hizo observaciones en animales de laboratorio que son la base de los estudios de la anatomía y embriología comparada. En el siglo II Galeno estableció los principios para la investigación experimental, creyendo que únicamente las afirmaciones basadas en la experimentación podrían conducir al progreso científico. Posteriormente ocurrieron muy pequeños avances científicos por lo que a este período se le llamo la edad oscura. Sin embargo durante el renacimiento, se desarrolló un renovado interés en los descubrimientos científicos. En el siglo XIX particularmente en la segunda mitad, ocurrió un significativo número de avances médicos. Estos incluyen el uso de vacunas para prevenir infecciones y el uso de éter como anestésico. Otros avances aceptados por los médicos como técnicas asépticas, mejoraron la comprensión de la biología y las causas de las enfermedades infecciosas. A principios del siglo XX las investigaciones científicas progresaron elevando el nivel de la tecnología y organización de la ciencia. Los avances en química, radiología, farmacología, genética, inmunología y otras ciencias básicas proporcionaron herramientas nuevas para el estudio de la ciencia. De esta forma surgieron aplicaciones nuevas para el estudio de los animales de laboratorio. Los científicos de todas las disciplinas aplicaron estos conceptos emergentes al conocimiento científico. La salud humana se benefició de las investigaciones realizadas en los animales, lo cual influyó en la opinión pública a favor de los científicos. En 1915 el Dr. Simon D. Brimhall de la clínica Mayo en Rochester, Minnesota, se convirtió en el primer médico veterinario especialista en animales de laboratorio. El, dirigió el bioterio, desarrolló la producción de colonias, investigó enfermedades de los animales de laboratorio y participó en proyectos de investigación tanto en forma colaborativa como independiente.

En los años 50s, hubo un resurgimiento de la preocupación de la sociedad por el uso de los animales la cual dió inicio a la ciencia de los animales como un campo organizado. Esto ocurrió en gran parte por el incremento de fondos para la investigación médica que utilizaba animales de laboratorio. Sin embargo, el uso de animales en la investigación continúa siendo tema de debates entre el sectores del público y la comunidad investigadora.

### A A L A S

De la necesidad de una mayor información específica y sistemática en la medicina y la crianza de los animales de laboratorio produjo el establecimiento en 1950 de un panel para el cuidado de los animales (ACP). La meta del ACP, fue el crear una organización nacional de profesionales preocupados en la producción, el cuidado y el estudio de los animales de laboratorio. En los Estados Unidos

de Norteamérica 1967 el ACP se transformó en "La Asociación Americana de las Ciencias de los Animales de Laboratorio" (AALAS). Ahora AALAS es el principal medio de comunicación entre los individuos de organizaciones en el campo de la ciencia de animales de laboratorio. AALAS produce una revista científica, certifica entrenamiento de técnicos y promueve la educación a través de varias publicaciones y de un congreso nacional anual que reúne a científicos, veterinarios, técnicos, manejadores y proveedores. Así mismo existen en USA 38 asociaciones filiales locales de AALAS las cuales proporcionan regularmente cursos de capacitación.

#### **OTRAS ASOCIACIONES RELACIONADAS CON EL CUIDADO DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO**

El interés público en los animales de laboratorio ha fomentado la creación de otras organizaciones preocupadas en el cuidado y uso de animales de laboratorio.

#### **Asociación Americana para la Acreditación del Cuidado de los Animales de Laboratorio (A A A L A C).**

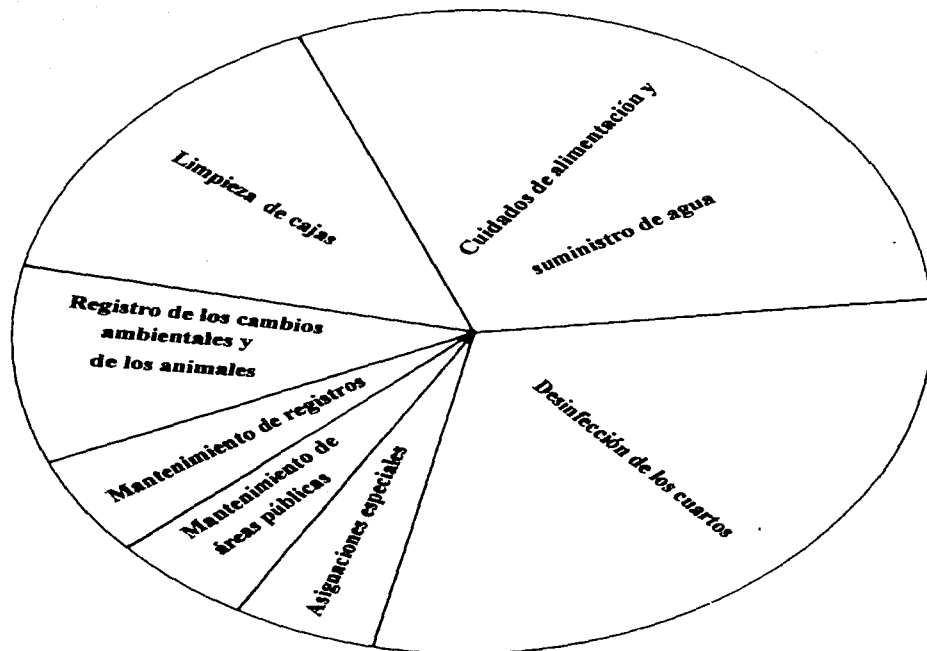
AAALAC fue formada en 1965. Esta organización promueve el cuidado óptimo de los animales a través de un programa de autorregulación que supervisa el cuidado y uso de los animales. El programa incluye visitas no anunciadas a las instalaciones, evaluación y acreditación del bioterios y programas. Actualmente AAALAC ha acreditado más de 500 programas institucionales para el el cuidado de animales de laboratorio.

#### **Asociación Nacional para la Investigación Biomédica (NABR)**

La NABR tiene el compromiso de fomentar y promover la investigación biomédica. Esta representa el interés del público y de la comunidad científica en las áreas relacionadas con la legislación y regulación del uso de los animales de laboratorio.

#### **EL PAPEL DEL AUXILIAR TECNICO DE ANIMALES DE LABORATORIO EN LA INVESTIGACION**

Las labores y servicios realizados por el auxiliar técnico en animales de laboratorio son parte integral e indispensable del proceso científico. Su trabajo tiene un impacto directo en los datos experimentales. La indiferencia, el descuido o el desarrollo inadecuado de su trabajo puede dar datos erróneos en los resultados y conclusiones incorrectas en la investigación. Los técnicos deben de estar preparados para que los cambios del medio ambiente, o el manejo experimental de los animales no introduzcan variables indeseables en los proyectos de investigación.



**Figura 1.1** Las obligaciones del auxiliar técnico de animales de laboratorio nuevo, están relacionadas directamente al cuidado directo de animales y la desinfección del bioterio. Mientras más se incremente su experiencia y conocimiento, el auxiliar técnico pueden aspirar a más responsabilidades mejorando su nivel técnico.

- Cuidados de alimentación y suministro de bebida
- Desinfección de los cuartos
- Asignaciones especiales
- Mantenimiento de las áreas públicas
- Mantenimiento de registros
- Registro de los cambios ambientales y de los animales
- Limpieza de las cajas

Las guías regulatorias presentadas por agencias de los Estados Unidos tales como, Servicios de Salud Pública (PHS), Institutos Nacionales de Salud (NIH) y el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA), establecen estándares para la operación adecuada del bioterios. Estos exigen entrenamiento de la gente que esta a cargo de los animales de experimentación. La contratación de técnicos bien entrenados en las instalaciones para investigación, ayuda a cumplir con estas regulaciones.

Algunos de los bioterios ofrecen programas de educación que ayudan a los técnicos a cumplir estas especificaciones. Cada bioterio debe desarrollar sus propios programas o estructurar cursos similares a las guías proporcionadas por organizaciones científicas como, "La Asociación Americana de las Ciencias de los Animales de Laboratorio" (AALAS). Estos cursos deben poner énfasis en el apropiado trato humanitario, producción, mantenimiento y desinfección de los animales en la investigación. Esto proporcionará uniformidad educacional y operacional entre los diferentes bioterios. A través de los programas para técnicos de AALAS los técnicos pueden llegar a certificarse nacionalmente en tres diferentes niveles: Auxiliar técnico de animales de laboratorio (ATAL), técnico en animales de laboratorio (TAL) y tecnólogo en animales de laboratorio (TGAL).

El auxiliar técnico en animales de laboratorio usualmente realiza los cuidados diarios de los animales tales como: alimentación, limpieza y manejo de estos. El ATAL también limpia y desinfecta los cuartos y jaulas de los animales, registra las condiciones ambientales y realiza registros sencillos de los animales (Fig. 1.1).

Ellos comúnmente trabajan bajo la supervisión de médicos veterinarios, un técnico en animales de laboratorio o el director del bioterio. Los investigadores dependen de los técnicos, por que ellos proporcionan cuidado continuo a los animales a través de todo su proyecto. Esto asegura que los datos de la experimentación no serán confundidos con los datos que nos pudiera dar un manejo deficiente de los animales.

El ATAL debido a su observación y trabajo diario con animales, casi siempre es el primero en reconocer y reportar los problemas potenciales de cuidado de los animales de laboratorio como: Enfermedades o uso de equipo y alojamiento inapropiado. Para que ATAL entienda sus responsabilidades para con el empleador y el cuidado de los animales, debe comprender los aspectos morales y éticos del cuidado y uso de animales en investigación. Ellos deben también tener un conocimiento general acerca de las normas federales, del estado y locales.

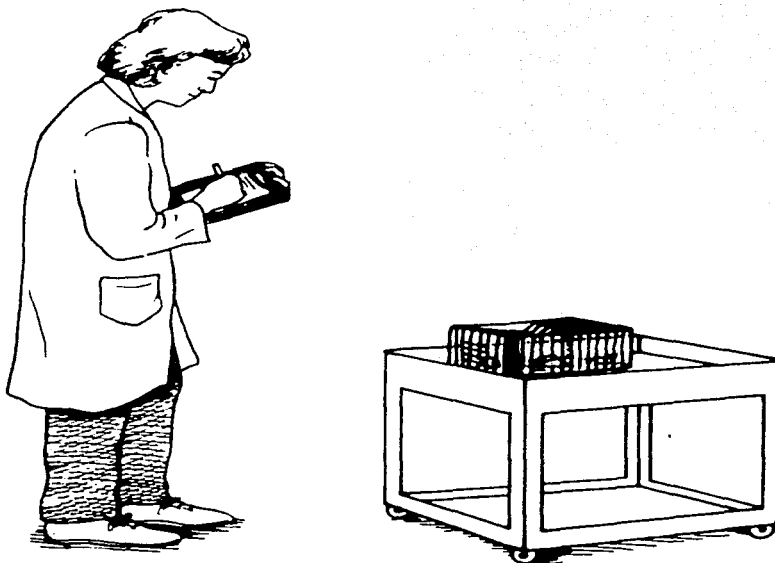
Siguiendo buenos hábitos de higiene, el personal ATAL debe poder mejorar los procedimientos de desinfección y esterilización requeridos en el bioterio. Ellos deben de observar y reportar los cambios de temperatura, flujo del aire, ciclos luz-obscuridad y humedad en los cuartos de los animales. El ATAL debe de poder

manejar, inmovilizar y sexar los animales más comunes de un bioterio. También deben de conocer varios métodos de identificación para los animales y ser capaces de ayudar con el llenado de los registros. El ATAL debe de reconocer signos comunes de enfermedades clínicas, variaciones en hábitos alimenticios, apariencia anormal de la orina y excremento, el comportamiento inusual y la muerte. Ellos deben dar tratamientos de rutina tales como, la administración de medicamentos en el caso de conejos con ácaros en las orejas y recorte de incisivos sobrecrecidos de estos animales.

Un buen llenado de registros tiene un efecto positivo en los programas de investigación y en el manejo del bioterio. El inapropiado manejo de una tarjeta de identificación de una caja por ejemplo, podría ocasionar la confusión de los animales y por lo tanto invalidar el esfuerzo y los resultados de la investigación. El llevar adecuadamente el registro de las cajas lavadas y de su desinfección, así como de los inventarios de este equipo, ayuda al bioterio a que se cumplan más fácilmente las especificaciones de desinfección.

La precisión de los registros levantados diariamente nos dan una información valiosa acerca de la salud de los animales, las condiciones ambientales, identificación y sanidad. Estos registros son extremadamente importantes. El ATAL debe ser capaz de mantener y proporcionar exactitud y legibilidad en los registros de las áreas bajo su responsabilidad (Fig. 1.2). Como miembro del equipo de investigación, el tiempo del ATAL es crítico para los objetivos de los programas de investigación.

El seguimiento de un programa de limpieza, alimentación y observación estandarizado, ayuda a asegurar un cuidado consistente y apropiado para los animales de laboratorio. Las vacaciones, fines de semana y días festivos, deben ser cuidadosamente programados para coordinar los esfuerzos y proporcionar un nivel de calidad de atención uniforme a los animales. El cumplimiento de los programas diseñados para el funcionamiento del bioterio generalmente se da cuando todos están involucrados en este proceso.



**Figura 1.2** El buen llenado de los registros es una responsabilidad primordial de todos los técnicos de un bioterio. Los registros, incluyen información sobre las condiciones ambientales, datos experimentales, salud, admisión, desinfección, inventario de los animales y observaciones de comportamiento. Todos estos registros son esenciales para asegurar que se utilizará el menor número posible de animales en los experimentos.



## ASPECTOS ETICOS DEL USO DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO

El uso de los animales en estudios biológicos, ecológicos, químicos, físicos, de conducta y algún otro tipo de investigación, ayudan a evaluar sistemas vivos. Las investigaciones biomédicas también utilizan animales para obtener conocimientos biológicos básicos y para estudiar las enfermedades de los humanos y los animales. Los modelos animales son adecuados para probar la administración de nuevas drogas, productos químicos, procedimientos quirúrgicos y dispositivos de seguridad antes de utilizarse en seres humanos y animales.

Algunos insectos, anfibios, peces, aves y una gran variedad de mamíferos incluyendo el ganado, primates no humanos, perros, gatos, cerdos y roedores son las especies más útiles de animales de laboratorio.

La posibilidad de las especies con información condescendiente aplicable a humanos, es un factor decisivo en la elección apropiada de un modelo animal. Muchas especies tienen características únicas, que los hacen especialmente útiles en el entendimiento de fenómenos biológicos básicos. El uso de animales con un perfil genético definido o restringidos a ciertas condiciones ambientales, de alimentación o de vida, permite a los científicos controlar variables que de otra manera podrían dar resultados dudosos. En algunos estudios, los investigadores deben seguir las características del animal desde que nace hasta que muere. El corto período de gestación y de vida de muchos animales de laboratorio hacen que estos estudios sean posibles.

### Las 3R's: Reemplazo, Reducción, Refinamiento.

Algunos estudios requieren de gran número de sujetos para proporcionar estadísticamente conclusiones confiables. Sin embargo, los científicos que usan animales de laboratorio deben de considerar la reducción en el uso de éstos. Un gran número de investigaciones se han desarrollado para reemplazar o reducir el uso de animales en experimentación. Un ejemplo muy conocido es el principio de las "3R's" de Russel y Burch:

- 1.- Reemplazo de animales por células o cultivos de células o tejidos o por modelos matemáticos siempre que sea posible.
- 2.- Refinar procedimientos para reducir el estrés o sufrimiento de los animales, cuando sea posible.
- 3.- Reducir al mínimo el número de animales que servirán para propósitos de investigación estableciendo la relación estadística que produzca beneficios científicos.

### **¿Quiénes Obtienen Beneficios de la Investigación con Animales?**

Las investigaciones con animales, han conducido a muchos avances médico quirúrgicos. Como resultado de esto, mucha gente y animales ahora gozan de vidas largas y sanas, mejores de las que pudieran tener generaciones previas. Se tendrán muchos beneficios en el futuro por los descubrimientos hechos ahora.

Algunas de las personas que reciben de inmediato y directamente beneficios de la investigación biomédica, conducida o trabajada en animales son:

- . Niños y adultos que han sido inmunizados contra enfermedades infecciosas tales como: polio, difteria, paperas, hepatitis o sarampión.

- . Gente que ha recibido antibióticos para combatir infecciones, insulina para combatir la diabetes, antiinflamatorios contra la artritis, quimioterapia contra el cáncer o drogas para el control de la hipertensión o tratamientos para enfermedades mentales.

- . Reemplazo de articulaciones en pacientes receptivos, reponer miembros como brazos y dedos en casos severos, trasplante de órganos, diálisis renal y cirugía de corazón.

- . Niños recién nacidos que gozan de una vida normal o capacidad mental gracias a tratamientos médicos contra enfermedades de Rh, fenilcetonuria (PKU) o hipotiroidismo (creatinismo).

- . Adultos tratados por problemas de encías (enfermedades periodontales), enfermedades del corazón hipertensión o cáncer.

Además de las aplicaciones clínicas directas, las investigaciones biomédicas con animales, ayudan a los científicos a entender la complejidad de la biología humana y animal, comportamientos y enfermedades físicas. Este conocimiento permite avances en el diagnóstico y tratamiento de fallas humanas y animales.

Las mascotas y animales de granja se han beneficiado de un conocimiento básico y aplicado, obtenido de la experimentación animal. Los estudios de fertilidad y las mejoras en la nutrición animal han aumentado la salud de éstos y la reproducción de especies en extinción. Las vacunas desarrolladas contra la rabia canina, distemper, hepatitis y enfermedades respiratorias así como leucemia, han favorecido el bienestar de los animales de compañía.

## CAPITULO DOS

### EL AMBIENTE PROFESIONAL DEL BIOTERIO

La meta final de toda investigación científica es el de obtener conocimientos nuevos con los cuales mejorar el futuro de la humanidad, de los animales y de su medio ambiente. Este tipo de investigaciones requiere de personal altamente capacitado para conducirlo y de dinero para pagar el equipo, los salarios, el cuidado de los animales y el costo de las instalaciones. La principal fuente de financiamiento gubernamental en los Estados Unidos para la investigación biomédica proviene de los Institutos Nacionales de Salud (NIH) y de otras agencias gubernamentales como la Fundación Nacional para la Ciencia, La Agencia de Protección al Medio Ambiente y de algunos gobiernos estatales y locales que también dan aportan donaciones para la investigación biomédica. También existen organizaciones privadas que ayudan o financian investigaciones biomédicas como el Instituto Médico Hughes, la Asociación Americana para el Corazón y La Sociedad Americana contra el Cáncer son algunas fuentes de donación privadas que proporcionan financiamiento a la investigación biomédica. Además, las compañías de productos farmacéuticos, químicos, y las empresas productoras de bienes de consumo financian y conducen pruebas de investigación biomédica.

#### PROGRAMAS DE INVESTIGACION.

Antes de que un programa de investigación pueda empezar, el científico tiene que escribir una propuesta detallada de la investigación. Este documento generalmente llamado propuesta o protocolo, explica los puntos específicos y resultados esperados de la investigación, detallando su metodología. Si este proyecto requiere de uso de animales, la propuesta describirá el bioterio y los servicios disponibles, a través de un programa institucional para el cuidado y uso de animales. El gobierno o agencias privadas oficiales revisan la propuesta para determinar si la investigación es importante para producir resultados significativos. Aprobará el financiamiento para la compra del equipo y las labores necesaria para llevar a cabo el estudio. Una porción de este dinero cubrirá el costo del cuidado de los animales en el bioterio.

La mayoría de los bioterios tienen procedimientos fiscales para recobrar los costos operativos por el cuidado de los animales, generalmente a través de cargos de alimentación diaria. Los costos diarios se refieren a los costos de alojamiento por un animal o de una jaula de animales por día. Si por ejemplo 12 animales permanecen en el bioterio por 30 días, serán 360, (12x30) animales acumulados por mes. Los reportes acumulados son cruciales para determinar diariamente los costos de cada especie alojada.

Las instituciones que proporcionan financiamiento, así como los científicos tienen gran interés en asegurarse que los servicios y los cuidados de los animales del bioterio sean los apropiados.

## MIEMBROS DEL EQUIPO

El tamaño de los equipos que realizan investigación varía, dependiendo del tipo de investigación y de los recursos disponibles. Típicamente el equipo incluye: Investigador principal, co-investigadores, técnicos de laboratorio, veterinario especialista en animales de laboratorio y los técnicos para el cuidado de los animales de laboratorio.

### El Investigador Principal

Es el científico que planea y coordina todas las fases del trabajo de investigación. El o ella desarrollan la hipótesis y preparan la propuesta. Estos, unidos a los co-investigadores y a los técnicos de laboratorio desarrollan el experimento e interpretan los datos. El investigador principal es el responsable de reportar los hallazgos de la investigación a la comunidad científica.

### Los Co-investigadores y Técnicos de Laboratorio

Usualmente son quien desarrolla las labores específicas requeridas para el proyecto. Estas incluyen el observar a los animales en experimentación, desarrollar y llevar a cabo las pruebas de laboratorio así como ayudar en la preparación de las mismas. Estos miembros del equipo también recolectan, organizan y analizan los datos generados del proceso de investigación. Los técnicos en animales de laboratorio pueden en algunas ocasiones desarrollar estas funciones dependiendo de su nivel de entrenamiento y conocimientos.

### Los Técnicos en Animales de Laboratorio

Son miembros esenciales del equipo de investigación, ya que ellos desarrollan muchos de los cuidados críticos para los animales y el estudio, como es el mantener la calidad del modelo en estudio. Ellos pueden controlar variables indeseables que afectan negativamente los datos experimentales. Tales variables incluyen diferencias en el programa de limpieza, los procedimientos de desinfección, la alimentación y la bebida, la humedad, el calor, la luz y el ruido. Si existe falta de control y variaciones en cualquiera de estos factores esto puede contribuir a cambios fisiológicos, enfermedades o condiciones debilitantes. Los técnicos en animales, deben asegurarse de que los animales tengan el cuidado médico apropiado, contactando el equipo veterinario para la atención médica y posibles tratamientos.

Los técnicos en animales deben aprender tanto como sea posible acerca de los animales de laboratorio y de la ciencia de los animales de laboratorio. Ellos deben aprender a seguir instrucciones, a aceptar en forma constructiva las críticas y a desarrollar con exactitud las instrucciones y procedimientos de operación que se les especifiquen. Deben de reportar a sus supervisores y a los investigadores principales toda la información relacionada con los cambios ambientales, así como cambios en el manejo de los animales y errores en el desarrollo de las actividades diarias de manejo y cuidado de los animales. Estas tareas requieren de confianza, madurez y honestidad. No hay lugar

para indiferencias, descuidos y miramientos personales.

#### **El Veterinario Especialista en Animales de Laboratorio**

Es quien coordina las actividades relacionadas con el cuidado de los animales de laboratorio y proporciona asesoría al investigador sobre la selección del modelo animal apropiado. Así mismo, es el responsable del mantenimiento de la salud de la colonia y el seguimiento y cumplimiento de las diferentes regulaciones y políticas que afectan la experimentación animal.

#### **Los Distribuidores Comerciales de Animales y Fabricantes de Equipo**

Los distribuidores comerciales de animales deben de proporcionar animales de excelente calidad que cumplan con las especificaciones de la investigación. Los fabricantes de equipo y cajas deben de proporcionar materiales que cumplan y excedan en su caso los mínimos requerimientos de calidad especificados por la ley u otras regulaciones. La calidad de la investigación depende de los materiales y herramientas usadas. Esto incluye el equipo de laboratorio y los animales.

#### **COMITE INSTITUCIONAL PARA EL CUIDADO Y USO DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO**

La ley para el bienestar animal y las políticas del Servicio Público de Salud de los Estados Unidos requieren que se establezca en cada institución un Comité Institucional para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (CICUAL). El comité es responsable de vigilar los programas y protocolos de investigación en la institución.

Este comité incluye un veterinario con experiencia en animales de laboratorio, científicos de diferentes instituciones que utilicen animales de laboratorio, una persona no científica y una persona no relacionada con la institución.

El CICUAL analiza los protocolos de investigación, que requieren animales para estar seguros que la metodología empleada está de acuerdo con las regulaciones federales e institucionales para el cuidado y uso apropiado de los animales (Fig. 2.1). El comité examina el bioterio y evalúan el programa pae el cuidado de los animales dentro de la institución cuando menos dos veces al año. También sirven como fuente de información para satisfacer la preocupación del personal institucional y de la comunidad, por el bienestar animal en la Institución.



**Figura 2.1** La mayor parte de las instituciones afiliadas al Comité Institucional para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (CICUAL), están formadas por personas con formación científica y no científica. Estos comités controlan los procedimientos experimentales en los que se usan animales. Además, continuamente evalúan el manejo de los animales y estipulan las normas sanitarias para los empleados de las instalaciones del bioterio.

En los Estados Unidos la responsabilidad del buen cuidado de los animales, es un principio moral y legal que recae en la misma institución. A nivel institucional el CICUAL tiene la capacidad de ejercer el control necesario para asegurar la calidad en el cuidado animal.

### **EL PROTOCOLO**

El protocolo es una descripción detallada de los procedimientos del proyecto que va a ser usado en la investigación. El CICUAL analiza los protocolos que requieren utilizar animales.

En algunas instituciones el CICUAL es responsable de revisar los protocolos por los méritos científicos, así como también por las razones relacionadas con el uso de animales. En otros casos el CICUAL se preocupa únicamente por la porción del bienestar animal sin hacer observaciones sobre los méritos científicos u otras características del protocolo.

Las decisiones del CICUAL se basan en fundamentos y principios científicos, así como en las leyes y las regulaciones que dirigen el uso de los animales en la investigación. Si se encuentran fallas en el protocolo propuesto, el CICUAL puede solicitar al investigador que haga modificaciones o puede rechazar el proyecto e impedir que este se inicie o continúe.

### **COMUNICACION Y ESPIRITU DE EQUIPO**

Los técnicos en animales de laboratorio deben de tener la capacidad de comunicarse efectivamente con el investigador, con el jefe del bioterio y con otros miembros del personal técnico. Ellos deben reportar cambios en la conducta de los animales tan pronto como sea posible. Esto ayudará a evitar problemas que puedan afectar los resultados de la investigación.

Es importante que cuando se trabaje en grupo se mantenga la actitud de ayuda para hacer un esfuerzo en conjunto. Esto es, tener espíritu de equipo más que una actitud de "nosotros-ellos". Cuando un miembro del equipo impulsa solamente sus propias necesidades, la satisfacción y efectividad del trabajo al cabo de un tiempo declinan. La eficacia y satisfacción de todos los miembros del equipo se incrementa cuando es un grupo que avanza a una meta común, al éxito del protocolo de investigación.

### **LEGISLACIONES LOCALES, ESTATALES Y FEDERALES ASI COMO LINEAMIENTOS GENERALES**

En 1873 el congreso de los Estados Unidos estableció la ley de las "28 hrs.", fue la primera ley federal que llamó la atención sobre el cuidado y trato humanitario de los animales. Como su nombre lo indica establece el periodo máximo de tiempo que pueden permanecer los animales sin alimento, agua y descanso durante su transporte dentro de los Estados Unidos. No fue hasta 1966, casi 100 años después, que la primera ley federal para proteger a los animales que no eran de granja fue aceptada. El Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) administra esta ley, la cual es ahora conocida como "La Ley para el Bienestar Animal", PL 89-544 y sus enmiendas. La preocupación de la opinión pública por el bienestar y uso de animales en la investigación biomédica, la enseñanza y pruebas de constatación de calidad, se han incrementado en los últimos años. Esta preocupación del público, ha sido cubierta por los medios de difusión y se ha cuestionado la validez y la necesidad de la investigación experimental, por lo que la legislación introduce una ley federal, estatal y local que lo refleja.

**Ley del Bienestar Animal**

Grupos o instituciones que venden, exhiben, transportan, alimentan o conducen las investigaciones con animales, están sujetos a la regulación por la ley del bienestar animal.

La ley del bienestar animal regula el uso de todos los animales de sangre caliente en la investigación, excepto en la crianza de ratas, ratones, pájaros y animales de granja usados como fuente de alimento. La ley también excluye animales de granja que serán usados en estudios para mejorar la nutrición animal, razas y eficacia de la producción animal. La ley para el bienestar animal cubre todos los animales silvestres incluso ratas y ratones. Estas regulaciones intervienen con su alojamiento, manejo, alimentación, suministro de agua, desinfección, ventilación, transporte, separación de especies y el cuidado veterinario de estos animales. La USDA proporciona formatos para los distribuidores de animales y bioterios, para mantener los registros de la adquisición y eliminación de animales. Los bioterios deben registrar y mantener un inventario anual vigente. Ellos deben entregar o regresar esta forma a la USDA cada primero de diciembre.

Para el seguimiento de los artículos de la ley para el bienestar animal los bioterios deben:

- 1.- Registrarse con la USDA.
- 2.- Mantener registros individuales de la fuente y uso de perros y gatos que sean utilizados, así como, la identificación y tatuaje proporcionados por el proveedor.
- 3.- Proporcionar una lista del número de especies animales envueltas en investigación y de los procedimientos sin dolor, con dolor o con estrés realizados. (La USDA proporciona la forma para reportar esta información).
- 4.- Alojar cada especie por separado y proporcionar un área apropiada y control del ambiente para cada animal.
- 5.- Satisfacer o exceder los estándares de higiene y limpieza de las cajas y bioterio.
- 6.- Dar un adecuado cuidado veterinario.
- 7.- Usar contenedores de embarque apropiados, con alimento y agua cuando los animales se transporten y reciban, así como, mantener temperaturas apropiadas.

En 1985 se establecieron los más recientes cambios en la ley para el bienestar animal. Las nuevas regulaciones para el cuidado apropiado de los animales definidas por estos cambios, incluyen áreas diferentes que no fueron cubiertas previamente por esta ley, tales como:

- Entrenamiento para científicos, técnicos de animales y otros usuarios de los animales.
- Ejercitamiento de los perros por los investigadores y distribuidores.



- Bienestar psicológico de los primates subhumanos.
- Definición específica de los procedimientos dolorosos en los animales de investigación que puedan requerir anestésicos, analgésicos u otros tranquilizantes.
- Listado de los experimentos quirúrgicos u operaciones que pudieran restringir el uso subsecuente de los mismos animales en procedimientos similares.
- La inspección de los bioterios por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio.
- La consideración de alternativas que no requieran del uso de los animales para experimentos en los que se les causa dolor o estrés.
- El establecimiento de un comité institucional para el cuidado y uso de los animales, que valore el cuidado de los animales, tratamientos y prácticas experimentales que se realicen en ellos, asegurándose que el animal no sufrirá dolor y malestar.

**Políticas de los Servicios Públicos de Salud sobre el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio.**

Las instituciones utilizando fondos proporcionados por las agencias de los Servicios Públicos de Salud como: Los Institutos Nacionales de la Salud (NIH), para conducir la investigación en cualquier vertebrado deben seguir regulaciones adicionales.

La última revisión de las políticas de PHS se efectuó en 1986. Esta revisión dictaminó una estricta adhesión a la guía para el cuidado y uso de los animales de laboratorio y requiere que las instituciones manden un acuerdo de concordancia y aceptación a la oficina de la PHS para la protección de riesgos en la investigación. La carta de acuerdo debe contener la siguiente información:

- 1.- Una lista de cada sección que conforma la institución.
- 2.- El organigrama explicando las responsabilidades de los administradores de los programas de investigación y el compromiso de que cumplen con estas políticas.
- 3.- El curriculum, autoridad y responsabilidad del veterinario que participará en el programa.
- 4.- La lista de miembros del comité institucional para el cuidado y uso de los animales de laboratorio (CICUAL).
- 5.- Una descripción de los procedimientos del CICUAL que servirá para la revisión de los protocolos que utilicen animales.
- 6.- Una descripción de los programas de salud para el personal que trabaja con los animales de laboratorio o que tiene frecuente contacto con ellos.
- 7.- Una síntesis del entrenamiento o instrucción ofrecida a los científicos, técnicos en animales y otro personal que este relacionado con el cuidado y uso de los animales.

8.- Un resumen de los métodos de prueba que minimicen el número de animales requeridos para obtener resultados validos, así como, minimizar el estrés en los animales.

9.- Una descripción de cada bioterio, incluyendo las áreas satélite, el área o superficie total, las especies alojadas y el inventario promedio diario por especie animal de cada bioterio.

Las actividades del comite Institucional para el cuidado y uso de los animales de laboratorio aseguran al PHS que los animales usados y sus cuidados cumplen con los principios humanos y científicos establecidos.

**Normas para el Buen Ejercicio de las Actividades de Laboratorio (Good Laboratory Practices, GLP).**

Las GLP son aplicables a los estudios con y sin animales, relacionados con la seguridad de alimentos y drogas de los Estados Unidos de Norte América (FDA), estos estudios incluyen sustancias de uso humano, veterinario, alimentos o aditivos colorantes para uso humano o animal, mecanismos médicos y productos biológicos. La agencia para la protección ambiental de los Estados Unidos (EPA) ha establecido guías relacionadas con el uso de insecticidas y otros procedimientos.

Para cumplir con las GLP, un bioterio debe de cumplir con varios requerimientos por ejemplo:

- 1.- Escribir un manual de procedimientos operativos (MPO) para todos los procedimientos científicos y de cuidados de los animales. El (MPO) debe estar disponible para revisión por la (FDA). El personal debe estar familiarizado con el manual y debe de utilizarlo para realizar sus tareas.
- 2.- Descripción del personal específico y mantener un listado común de trabajos para cada empleado. Este listado debe incluir el registro de entrenamiento y experiencia, así como, evaluaciones de desempeño.
- 3.- Usar las técnicas apropiadas de desinfección para evitar la contaminación de grupos controles y tratados.
- 4.- Proporcionar cuidados diarios apropiados, alojamiento y tratamiento veterinario, así como registros exactos de las actividades para cada animal.
- 5.- Alojamiento para cada especie por separado y proporcionar medidas que eviten que otras actividades interfieran con los estudios.
- 6.- Guardar toda la documentación del bioterio, como puede ser la del personal, hojas de datos de producción y cuidados, por lo menos dos años después de terminado el proyecto.

**Guía Para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio.**

Esta guía es un documento de 80 páginas elaborado por el Instituto de Recursos de Animales de Laboratorio (ILAR) para los NIH. El propósito de la guía, primeramente publicada en 1963 y

últimamente revisada en 1986, es ayudar a las instituciones preocupadas por el cuidado y uso de los animales de laboratorio.

Este documento es una referencia adecuada para el cuidado veterinario, requerimientos ambientales, requerimientos de alojamiento, entrenamiento del personal, niveles de higiene, cuidados quirúrgicos y postquirúrgicos, técnicas aceptables de eutanasia y guía para el diseño de bioterios.

La guía, junto con la ley para el bienestar animal y otros documentos federales, estatales y locales relacionados, así como también las políticas institucionales, son la base de los programas de cuidado y uso de los animales. La Asociación Americana para la Acreditación del Cuidado de los Animales de Laboratorio (AAALAC) una organización que evalúa el apropiado cuidado y uso de animales de laboratorio, usa la guía y otros documentos para acreditar los programas para el cuidado de los animales y sus instalaciones.

### **Leyes Estatales, Locales y Políticas Institucionales**

Además de las regulaciones federales que establecen estándares para el cuidado y uso de animales de laboratorio hay otras leyes y políticas que afectan a los bioterios. Los bioterios deben cumplir con las leyes estatales y locales que regulan en los Estados Unidos la investigación basada en animales. Es más, la mayoría de colegios, instituciones y corporaciones que tienen políticas internas obligan a su personal científico y técnico que realiza experimentos a que también las adopten. El director de un bioterio es responsable de asegurar que la institución opera con los requerimientos locales. En el caso de las políticas internas, se debe asegurar que estas están de acuerdo a las regulaciones. Es por lo tanto muy importante que los técnicos en animales de laboratorio sigan estas regulaciones. Este tipo de políticas institucionales puede limitar el uso de ciertas especies para investigación y puede requerir entrenamiento y certificación del personal que trabaja con los animales. Estas políticas pueden restringir la compra de animales a ciertos distribuidores o requerir el uso de ciertas precauciones contra riesgos biológicos. Un técnico de animales de laboratorio bien informado, deberá cumplir con todos los requerimientos y políticas institucionales. El aprendizaje de estos requisitos institucionales expresados en los estándares de operación, son parte de las responsabilidades del técnico en animales de laboratorio.

### **OPORTUNIDADES DE EMPLEO**

En los Estados Unidos las oportunidades de empleo para los individuos que han recibido un entrenamiento especializado en el cuidado y uso de animales de laboratorio, son cada vez mayores. En las instituciones de salud pública, los centros de investigación biológica y biomédica, las instituciones educativas, las compañías productoras de productos farmacéuticos, y biológicos, las compañías productoras de sustancias químicas y productos de consumo, productores de dietas de alimentos para animales, distribuidores y productores de animales de laboratorio continuamente están contratando técnicos especializados.

### **El Inicio y el Ascenso**

En la mayoría de estas instituciones y empresas privadas, el técnico asistente de animales de laboratorio, es el responsable del cuidado y procedimiento de limpieza de las cajas de los animales y del mantenimiento del bioterio. Después de adquirir experiencia y educación adicional, el puede solicitar su promoción a un nivel superior de certificación a través de AALAS. El auxiliar técnico de animales de laboratorio puede progresar en sus responsabilidades y alcanzar el título de técnico en animales de laboratorio. Ellos pueden realizar funciones de asistencia al investigador y a su veterinario.

Ellos mantienen los registros de animales, comida, material de cama, e inventarios del equipo. Tanto el auxiliar técnico de animales de laboratorio como el técnico, son responsables de observar y reportar el estado de salud y bienestar de los animales a su supervisor. A través de mayores conocimientos y mayor educación, el técnico en animales de laboratorio puede tener la oportunidad para ascender a una posición mas especializada en las ciencias de los animales de laboratorio, como puede ser la de coordinar la producción de la colonia y co-participar en los procedimientos de cirugía experimental. El pago y los beneficios son incrementados conforme a la responsabilidad y educación. Existen muchas oportunidades en algunos bioterios para que se realice el entrenamiento durante las horas de trabajo, de esta manera podrán obtener una mayor formación académica. Los técnicos y auxiliares técnicos también pueden tomar ventajas de los programas de educación continua que se producen a través de los centros regionales de AALAS. La mayoría de los contratantes reconocen el deseo de sus empleados por mejorar y apoyan este tipo de esfuerzos. El avance en la experiencia, entrenamiento y conocimiento, puede permitir a una persona certificada como tecnólogo el llegar a una posición de supervisor o director del bioterio. En este nivel de responsabilidades usualmente se relacionan todas las funciones de dirección y operación del bioterio, así como, el manejo del personal. Esto incluye el reporte de las actividades operacionales, planear la organización, realizar los presupuestos para cada departamento involucrado con el bioterio, así como, la administración central. Estos avances son posibles para individuos que tienen el deseo de captación y superación.

### **Búsqueda de Empleo en la Ciencia de los Animales de Laboratorio**

Los trabajos más buscados en el área de las ciencias de animales de laboratorio, son aquellos que proporcionan oportunidades de crecimiento profesional. Cuando se busca empleo el primer objetivo del técnico debe de ser el encontrar un bioterio que puede llenar sus deseos, sus aspiraciones y ofrecerle el entrenamiento necesario para su superación. La mayor parte del proceso de contratación es a través de una entrevista. Esta es la oportunidad del aspirante para convencer al contratante de que es la persona que requiere. Para que una entrevista sea exitosa, el aspirante debe estar capacitado para responde preguntas presentadas por el entrevistador. Un contratante típicamente pregunta al aspirante sobre su historia

laboral, nivel educativo, sus metas y habilidades específicas. El entrevistador puede preguntar acerca del puesto al que aspira; de igual manera el aspirante cuestiona al entrevistador. Una lista por escrito puede ayudarlo a recordar aspectos importantes como: prestaciones, disponibilidad de entrenamiento, oportunidades de desarrollar una carrera, ascensos salariales, responsabilidades, horario de trabajo y beneficios educacionales. Es importante que durante la entrevista el aspirante demuestre habilidad de comunicación, tanto como el entusiasmo por el trabajo requerido.

El aspirante debe siempre ser honesto acerca de su entrenamiento y nivel educativo. La exageración y deshonestidad pueden llevarlo a asignaciones que están mas allá de su capacidad y entendimiento. Esto puede llevar a una evaluación pobre o deficiente durante su periodo inicial de prueba, esta evaluación puede afectar su credibilidad así como su contratación definitiva.

#### **Evaluación del Desempeño**

Los empleados regularmente reciben un formato por escrito de instrucciones que explican como deben realizar el trabajo. Estas instrucciones deben de explicar el mínimo desempeño aceptable y la forma en que se espera desarrolle las tareas del empleado. El conjunto de instrucciones debe de satisfacer tres requisitos: Deben de ser específicas, medibles y realizables. Cada técnico de animales de laboratorio debe asumir su responsabilidad personal para satisfacer los niveles de desempeño marcados.

Otra herramienta útil para evaluar el desempeño del personal, es el tener o contar con una tabla de calificación del desempeño. La base para elaborar esta tabla son las instrucciones y descripción de las tareas que debe de realizar el empleado. En ella se mide que tan bien el empleado ha desarrollado las tareas y ha cumplido las metas, las cuales debieron haber sido marcadas en conjunto por el supervisor y el empleado.

El empleado y su supervisor deben trabajar juntos, para recopilar una lista de metas entre una y otra entrevista. Parte de la tabla de evaluación de desempeño debe medir que tan bien el empleado esta llegando a estas metas, esta tabla de evaluación del desempeño generalmente es un factor clave para determinar los incrementos salariales y las promociones de empleo. Por lo que es necesario definir claramente y comprender cada una de las metas.

#### **Procedimientos Disciplinarios**

La disciplina en el trabajo es una acción que la mayoría de los técnicos esperan nunca encarar. Esto es un procedimiento con el cual los técnicos deben familiarizarse. Es necesario familiarizarse con los procedimientos de manejo de personal de la institución. La información de estos procedimientos generalmente se da a cada empleado nuevo en su primer día de trabajo. Los supervisores o representantes del personal usualmente están dispuestos a explicar las reglas que no están claras.

La buena comunicación es importante. Si, por ejemplo un empleado tiene problemas en su relación con un compañero, investigador o hasta un supervisor, ya sea un asunto personal o profesional, la

resolución rápida es importante. Problemas pequeños fácilmente pueden crecer y afectar la disciplina que algunas veces concluye en el despido del empleado.

## UNIDAD 2

### BASES CIENTIFICAS PARA EL AUXILIAR TECNICO

Para llegar a ser competente en las habilidades requeridas para un técnico de animales de laboratorio, es importante tener ciertas bases científicas. Esta unidad contiene tanto aspectos generales de información, como prácticas que le ayudarán al técnico en animales de laboratorio a familiarizarse con los conceptos científicos generales y la terminología relacionada con la biología. Los aspectos prácticos son esenciales para el desarrollo de habilidades. La información más general, ayudará al técnico en animales a comprender la investigación en la cual está participando. Esto también le ayudará a comunicarse efectivamente con el equipo de investigadores para quienes está trabajando y le ayudará a ascender en su carrera en la ciencia de los animales de laboratorio.

Para que el técnico en animales de laboratorio desarrolle habilidades para practicar técnicas de dosificación de drogas, anestesia y asistencia quirúrgica se requiere que consulte textos complementarios así como asistir a cursos más especializados.

## CAPITULO TRES

### INTRODUCCION A LA CIENCIA

El conocimiento de la terminología científica básica, química fundamental, pesos y medidas utilizadas en el laboratorio, ayudará al técnico nuevo en animales de laboratorio a conocer más de la biología de los animales con que trabaja. Los aspectos prácticos de la ciencia de los animales de laboratorio, como son el metabolismo de las drogas, anestésicos y nutrición, pueden ser un área difícil si no se tiene información básica. Se recomienda que los estudiantes que no han tenido estudios formales en química básica, utilicen un buen libro de texto para familiarizarse con estos temas. Los principios de química cubiertos en este capítulo se ofrecen únicamente como una introducción mínima.

#### TERMINOLOGIA CIENTIFICA SELECCIONADA

En biología y medicina los términos científicos están compuestos de tres partes: el prefijo, la raíz y el sufijo. El prefijo es la descripción y aparece al inicio de la palabra. La raíz de la palabra es lo que está siendo descrito. El sufijo aparece al final de la palabra y también es descriptivo. El uso de un prefijo inapropiado puede drásticamente alterar el significado de una palabra. Por ejemplo, e-yección literalmente significa jalar hacia afuera, mientras que in-yección significa empujar hacia adentro.

Una lista de prefijos seleccionados, raíces y sufijos se presenta en la Tabla 3.1.

**Tabla 3.1** Selección de prefijos, raíces y sufijos científicos y su significado.

Prefijos	Raíz	Sufijos
á-sin	cardio-corazón	algia-dolor
ante-antes	cito-céula	cida- muerto
anti-contr	dermo-piel	ectomia -remoción quirúrgica
bi-dos	entero-intestino	
con-juntos	gastro-estómago	logos-estudio de
ecto-fuera	hemo-sangre	lisis-destrucción
endo-dentro	hepato-hígado	oma-tumor
hemi-mitad	lacto-leche	osis-condición de enfermedad
hiper-mayor que	neuro-nervio	tomía-corte dentro
inter-entre	osteo-hueso	
intra-dentro	oto-oido	
iso-igual	pato-enfermedad	
macro-grande	podo-pie	
neo-nuevo	trico-pelo	
pseudo-falso		



## PRINCIPIOS BASICOS DE QUÍMICA

Todo el universo, ya sean los seres vivos o las lunas de marte, están hechos de materia fundamental denominada átomos. Pueden identificarse diferentes tipos de átomos constituyendo las diferentes sustancias, debido a su peso y otras características. La tabla periódica enlista 103 tipos comunes de átomos que existen sobre la tierra, los cuales se denominan elementos. Algunos elementos se encuentran comúnmente en los seres vivos y se muestran a continuación con sus símbolos:

Carbono (C)	Nitrógeno (N)
Oxígeno (O)	Calcio (Ca)
Hidrógeno (H)	Sodio (Na)
Fósforo (P)	Hierro (Fe)

La mayoría de los átomos, de alguna manera son inestables cuando existen en unidades simples y por lo tanto requieren de combinarse con otros, ya sea del mismo elemento o de diferentes elementos, por ejemplo, un átomo de oxígeno comúnmente se une a otro átomo de oxígeno para formar un complejo más estable de dos átomos de oxígeno. Este tipo de complejo es llamado molécula, en este caso una molécula de oxígeno. Una molécula de oxígeno generalmente se escribe como  $O_2$  y es la misma forma en la cual se encuentra el oxígeno en el aire. Algunos átomos de un elemento común se unen con átomos de diferentes elementos para formar una molécula más compleja. Dos átomos de hidrógeno, por ejemplo, se unen comúnmente con un átomo de oxígeno para formar una molécula de agua, que se escribe como  $H_2O$ .

A la interacción de moléculas y recombinación de sus átomos para formar varias sustancias se le denomina química. La digestión de la comida, el metabolismo de un anestésico, la interacción de bacterias y antibióticos, la toxicidad de una sobredosis de un medicamento y el efecto de la hormona de la gestación, todas ellas involucran reacciones químicas. Estas interacciones químicas pueden ser afectadas por el calor, la luz, la presencia o concentración de otras sustancias y otros factores que no son fácilmente controlados.

Como técnico en animales de laboratorio es importante que se de cuenta que estos tipos de interacciones químicas en un animal ocurren dentro de un balance dinámico, un estado activo denominado homeostasis. Una lista incorrecta, una sobredosis de sustancias, la falla de un técnico en animales de laboratorio en reportar que hay altos niveles de amoníaco en el cuarto y una multitud de otros errores, pueden causar cambios en el balance químico del animal u homeostasis. No se espera que el auxiliar técnico en animales de laboratorio identifique todos estos problemas o problemas potenciales. Sin embargo ellos deben reconocer cuales son los procedimientos de operación estándar, los tratamientos, los alimentos y las dosificaciones, para reducir los peligros de interacciones con sustancias químicas indeseables que pudieran afectar a los animales y los datos de investigación.

### PESOS Y MEDIDAS

La ciencia se basa en nuestra habilidad para determinar y registrar con exactitud mediciones como la distancia, el peso, el volumen o la temperatura. En la mayor parte de los países existe como patrón el sistema métrico decimal. Los Estados Unidos es el único país que no ha adoptado este sistema de medida. En los Estados Unidos se sigue utilizando el sistema de medición denominado sistema británico. Sin embargo, la comunidad científica prácticamente utiliza el sistema métrico. Por lo tanto es esencial que el técnico en animales de laboratorio este familiarizado con el sistema métrico decimal.

Todas las unidades del sistema métrico decimal están basadas en potencias de diez. La unidad de peso es el gramo (g), la unidad de distancia es el metro (m) y la unidad de volumen es el litro (l). Cuando a estas unidades se les agrega un prefijo se está indicando que son múltiplos. Por ejemplo mili = 1/1000; centi = 1/100; deci = 1/10; kilo = 1000. Un miligramo es por lo tanto la milésima parte (1/1000) de lo que pesa un gramo y un kilogramo es mil veces más de lo que pesa un gramo. De la misma forma, un mililitro es la milésima parte (1/1000) del volumen de un litro y un kilolitro es 1000 litros. Un milímetro es la milésima parte (1/1000) de un metro y un kilómetro es 1000 veces más largo que un metro.

Es posible que en México los técnicos en animales de laboratorio puedan estar en contacto tanto con medidas expresadas en el sistema inglés como en el sistema decimal, por lo que ellos deben estar familiarizados con los dos sistemas y convertir datos de un sistema a otro. La tabla 3.2 enlista las conversiones más comunes. Aprender el sistema de conversión inglés a sistema métrico no es fácil, pero los técnicos en animales deben aprenderlo si tratan de desarrollar habilidades de medición en su trabajo.

La temperatura también puede ser medida en dos escalas. En los Estados Unidos se utiliza la escala Fahrenheit, mientras que el personal científico y la gente de todos los países utiliza la escala Celsius. La escala Celsius es algunas veces denominada centígrado, porque 100 grados separan el punto de congelación (0°) y el de ebullición (100°) del agua. La siguiente fórmula se utiliza para convertir grados Fahrenheit en grados centígrados:

$$^{\circ}\text{C} = 5/9 (^{\circ}\text{F}-32)$$

Un ejemplo del uso de la fórmula se da a continuación. La temperatura para las máquinas de lavado de cajas debe ser de 180°F. Para determinar la misma temperatura en la escala Celsius se realiza el siguiente procedimiento:

$$^{\circ}\text{C} = 5/9 (180^{\circ}-32)$$

$$^{\circ}\text{C} = 5/9 (148)$$

$$^{\circ}\text{C} = 5/9 \times 148 = 740/9 = 82.2^{\circ}\text{C}$$

Otras temperaturas que sería conveniente recordar su equivalencia en grados Fahrenheit y Centígrados son:

1. La temperatura ambiente promedio es de 22°C ó 72°F.
2. La temperatura de refrigeración es de 4°C o 36°F.
3. La temperatura de congelación es de 0°C o 32°F.
4. La temperatura de ebullición del agua es 100°C o 212°F.
5. La temperatura del cuerpo Humano es de aproximadamente 37°C o 98.6°F.

**Tabla 3.2** Conversión del sistema Inglés/Métrico Decimal

Inglés	Métrico
<b>Peso (seco)</b>	
1 onza (oz)	28.4 gramos (g)
2.2 libras (lb)	1 Kilogramo (Kg)
1 libra (lb)	454 gramos (g)
<b>Volumen (líquido)</b>	
1 onza líquida (oz)	30 mililitros (ml)
1 cuarto (qt)	946 mililitros (ml)
1 cuarto (qt)	0.946 litros (l)
<b>Distancia</b>	
1 pulgada (in)	2.54 centímetros (cm)
1 pulgada (in)	25.4 milímetros (mm)
39.3 pulgadas (in)	1 metro (m)

1. Una pulgada es aproximadamente 2.5 centímetros.
2. Un metro es un poco más de tres pies.
3. Un litro es aproximadamente lo mismo que un cuarto.
4. Un mililitro es aproximadamente 20 gotas.
5. Un ratón en promedio pesa aproximadamente 15 a 20 gramos.
6. Un perro de 10 Kg pesa aproximadamente 22 libras.

## CAPITULO CUATRO

### ESTRUCTURA DE LA CELULA Y DE LOS TEJIDOS

Con el propósito de proporcionar cuidado adecuado a los animales de laboratorio y ayudar al investigador a desarrollar sus experimentos, los técnicos en animales deben de comprender la conducta normal y la fisiología de los animales que están a su cuidado. El conocimiento de la anatomía y fisiología animal, ayuda al técnico en animales de laboratorio a reconocer las anomalías de conducta y de función para poder realizar un reporte apropiado y exacto. Entre más conoce el técnico en animales de laboratorio sobre la anatomía y fisiología de los animales, se convierte en un individuo más valioso para el éxito del equipo de investigación.

#### ANATOMIA Y FISILOGIA

La anatomía y fisiología son las ciencias que se encargan del estudio de las células, los tejidos y los órganos. La anatomía macroscópica permite el estudio de las estructuras o partes del animal que son visibles al ojo desnudo. La histología es la rama de la anatomía que se encarga del estudio de los detalles microscópicos de los tejidos normales y enfermos. La fisiología es el estudio del funcionamiento de las partes de un organismo vivo; en otras palabras, como trabaja. Cada célula, tejido u órgano de un animal, desarrolla una función en particular y específica para el animal. En conjunto estas células, tejidos u órganos y sus respectivas funciones permiten al animal vivir, crecer y reproducirse. La mayoría de los animales de laboratorio son vertebrados, generalmente mamíferos. El estudio de la anatomía y fisiología de los animales de laboratorio revela que existen muchas similitudes entre las diferentes especies. La comparación entre especies, ayuda a desarrollar modelos animales para el estudio de enfermedades tanto humanas como de los animales.

#### ORGANIZACION DEL CUERPO

El cuerpo de un animal tiene tres niveles de organización: el nivel celular, el nivel tisular y el nivel de los órganos. Los tejidos están compuestos de muchas células, frecuentemente de muchos tipos y material intercelular. Los órganos están compuestos de varios tipos de tejidos.

## Células

Las células animales tienen tres componentes básicos cada uno con funciones específicas: (1) la membrana celular, la cual rodea a la célula y permite el paso selectivo de nutrientes y gases como el oxígeno, así como el paso de desechos y otros materiales que salen de la célula; (2) el núcleo, el cual contiene el material genético que dirige las funciones de la célula; y (3) el citoplasma, el cual contiene nutrientes y los organelos, las cuales son estructuras que realizan las funciones bioquímicas de la célula (Fig. 4.1).

Algunos procesos celulares son activos, esto es, ellos requieren energía para que ocurra. Por ejemplo, la ruptura de los nutrientes en sus componentes individuales es un proceso activo. Otros procesos celulares son pasivos; estos ocurren como el resultado de concentración entre el compartimiento extracelular y el intercelular. El paso del agua a través de la membrana es un ejemplo típico de proceso celular pasivo.

## Los tejidos

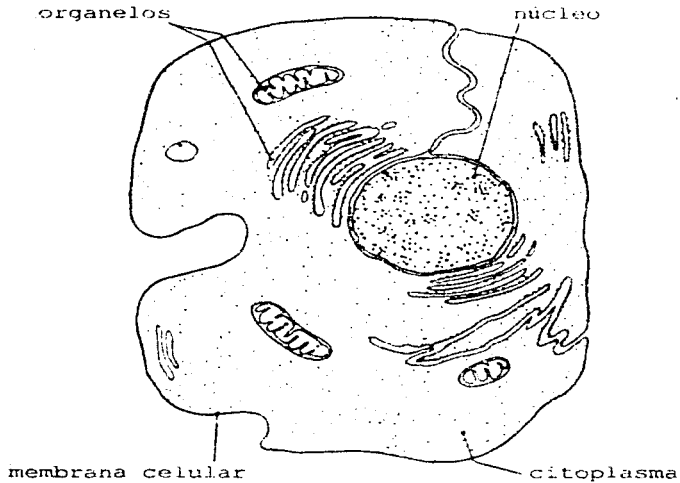
Las células de los animales multicelulares se presentan en grupos con características similares y se mantienen unidas por su sustancia intercelular. Estos grupos de células es lo que denominamos tejidos. Cada tipo de tejido tiene una función específica, pero la mayoría sirven para más de una función. Los cuatro tipos de tejidos y sus funciones son:

1. Tejido epitelial: Cubre las superficies del cuerpo, delimita las cavidades y forma las glándulas. Su función es la de actuar como una barrera protectora contra el medio ambiente externo al resto de los tejidos. La piel y las mucosas que delimitan la cavidad bucal son un ejemplo de tejido epitelial.

2. Tejido conectivo: Este tejido une a otros y da apoyo a células así como relaciona a los tejidos con otros órganos. Los huesos, los tendones, la sangre y el tejido subcutáneo son variedades de tejido conectivo.

3. Tejido muscular: Este tejido se contrae a la estimulación para funcionar en los movimientos, el mantenimiento de la postura y la producción de calor.

4. Tejido nervioso: Es un tejido especializado que conduce los impulsos a través del cuerpo. El cerebro, la médula espinal y los nervios periféricos están compuestos de este tejido.



**Fig. 4.1** Una célula consiste de varios componentes los cuales participan en el metabolismo, la división celular y la producción de sustancias celulares como pueden ser las hormonas y los anticuerpos. Los animales de un tamaño similar al de un humano adulto están compuestos de trillones de células que trabajan unidas para mantener la homeostasis.

### **Organos y Sistemas**

Los órganos consisten de grupos de varios tipos de tejidos. Ellos realizan una o más funciones esenciales para los animales. Varios órganos constituyen los sistemas que realizan funciones específicas del cuerpo. Ninguno de estos sistemas puede funcionar en forma separada. Cada uno depende del otro para sobrevivir. El corazón por ejemplo, es una parte del sistema circulatorio que bombea la sangre a través del cuerpo. Este, está compuesto principalmente de células especializadas en la contracción muscular, pero también está formado por tejido conectivo, nervios y tejidos epiteliales. El sistema nervioso controla el corazón, utilizando la información que recibe de todas las partes del cuerpo. Sin arterias, venas y otras partes del sistema circulatorio, el corazón sería incapaz de funcionar por mucho tiempo. El cuerpo de los animales vertebrados está formado por once sistemas principales: Esquelético, muscular, tegumentario, respiratorio, nervioso, circulatorio, urinario, linfático, endocrino, digestivo y el reproductor. Detalles de cada uno de estos sistemas se presentan en el Capítulo 5.

### **COMPRENDIENDO LAS DESCRIPCIONES ANATOMICAS**

Cada disciplina tiene su propio lenguaje y la anatomía no es una excepción. Existe un gran número de términos anatómicos que se utilizan para describir las posiciones o la relación de una estructura o parte de una estructura con otra (Tabla 4.1 y Fig. 4.2). Estos términos se pueden referir al cuerpo; por ejemplo, craneal (hacia la cabeza). Estos también se pueden referir a estructuras anatómicas como la boca; por ejemplo, oral (relacionado a la boca). Algunas estructuras del cuerpo tienen nombres relacionados a su asociación con otras estructuras. Ejemplos son la arteria y nervio radial, así denominado por su proximidad al radio, uno de los huesos del brazo, o pata anterior. Así mismo partes del cuerpo tienen nombres regionales, por ejemplo los músculos abdominales o las vertebras torácicas.

Una vez que el técnico es capaz de describir las partes del cuerpo del animal por su dirección y posición, es capaz también de localizar los sitios de sangrado y de inyección. Las tablas A1 y A2 en el apéndice, resumen los sitios comunes de sangrado e inyección en los animales de laboratorio.

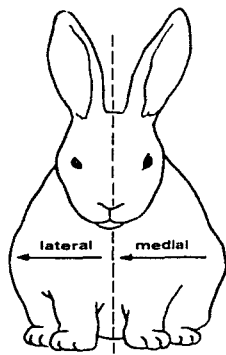
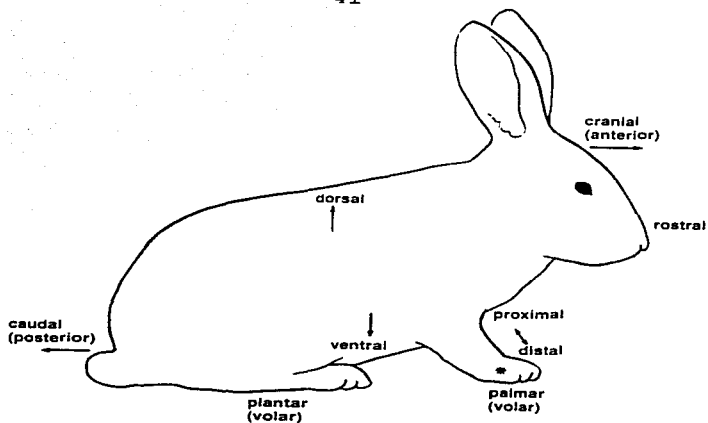
### **ORGANIZACION ANATOMICA GENERAL**

El cuerpo de los vertebrados tiene simetría bilateral, esto es que la mayor de las estructuras son las mismas a cada lado. En otras palabras, si el cuerpo fuera dividido en mitad derecha e izquierda, cada mitad (excepto por algunos órganos) pudiera ser la imagen en espejo del otro lado.

El cuerpo se organiza en tres principales divisiones: La cabeza, el tronco y las extremidades. La cabeza contiene la mayoría de los órganos de los sentidos (ojos, oídos, nariz y el cerebro), los cuales están protegidos por el cráneo o huesos de la cabeza. La cabeza esta conectada con el tronco a través del cuello. El tronco tiene dos cavidades, la torácica (corazón y pulmones) y la cavidad abdominal (contiene los órganos del aparato digestivo, reproductor y excretor. Las extremidades se unen como apéndices que se proyectan del tronco. Estos incluyen las patas y la cola. En la mayor parte de los animales de cuatro patas, estas son el principal medio de locomoción. En algunos, sin embargo (especialmente en los primates no-humanos), la cola también ayuda a los animales a moverse.

En cada especie el tamaño de sus órganos y sistemas varía, así como su forma de acuerdo a las necesidades impuestas por la especie a el nicho ecológico que ocupa. La longitud del aparato digestivo, por ejemplo, refleja los hábitos alimenticios. El tamaño relativo del corazón de algunos animales y de los pulmones, comparados con el tamaño total de su masa sugieren su nivel de actividad.





**Figura 4.2** Algunos de los términos comúnmente utilizados para ayudar a los técnicos a definir la localización específica de las partes de un animal. Por ejemplo, en esta ilustración la terminación distal de la pata anterior derecha del conejo se marca con un asterisco.

<b>Tabla 4.1</b>	<b>Términos Anatómicos para Dirección y Posición</b>
------------------	--

<b>Términos</b>	<b>Definición</b>
Anterior/posterior-----	Hacia el frente/hacia atrás
Craneal (cefálica)/caudal----	Hacia la cabeza/hacia la cola
Dorsal/ventral-----	Hacia la espalda/hacia el abdomen
Lateral/medial-----	Alejado de/hacia la línea media del cuerpo o de la porción del cuerpo.
Proximal/distal-----	Próximo a/ más allá del punto específico del cuerpo.
Superior/inferior-----	sobre/abajo
Sagital-----	En una dirección antero-posterior, usualmente separando el lado derecho del lado izquierdo del cuerpo.
Radial y ulnar-----	Relación hacia el radio y la ulna, los cuales son huesos de las extremidades anteriores.
Tibial y fibular-----	Relacionados con la tibia y la fibula, los cuales son huesos de las patas posteriores.
Palmar-----	Relacionado a la palma de la pata anterior.
Oral-----	Relacionado con la boca.

## CAPITULO CINCO

### LOS ORGANOS Y LOS SISTEMAS

Muchas técnicas de producción e investigación se basan en las características anatómicas y fisiológicas de los animales. La inmovilización, la inyección y la recolección de muestras, por ejemplo, usualmente se describen utilizando términos anatómicos que orientan al técnico. Así mismo, el familiarizarse con algunos aspectos funcionales de varios sistemas es también importante, dado que estos sistemas son la base para el diagnóstico, manipulación nutricional y experimental de los animales de laboratorio.

#### SISTEMA TEGUMENTARIO

La piel o tegumento cubre un animal y lo protege del medio externo. Esta protección es extremadamente importante para mantener las funciones metabólicas. Existen algunas diferencias de tegumentos entre las especies animales. Los peces por ejemplo, tienen escamas embebidas en la piel. Las aves tienen plumas y un tipo modificado de piel similar a escamas en las patas, piernas y pico. Todos los mamíferos se caracterizan por tener pelo.

La piel está compuesta de varias láminas de tejidos, cada una con muchas células de grosor. La piel protege al cuerpo de los cambios del medio ambiente externo en que el animal vive. En la superficie interna de la nariz, la boca, el ano, la vagina, la abertura uretral y la parte interna de los párpados, adquiere una apariencia diferente, por lo que se le conoce como membrana mucosa.

La piel de los vertebrados tiene tres estructuras básicas: La epidermis, la dermis y las glándulas.

La Epidermis: La lámina externa de la piel se denomina epidermis. La epidermis se dispone en láminas de células. Las células nuevas se forman en la base y gradualmente se mueven hacia la superficie conforme envejecen. La superficie de las células epidérmicas eventualmente se secan (se cornifica) y se desprende. El continuo desprendimiento de células epidérmicas se denomina descamación. Las células epidérmicas pierden su núcleo durante su migración a la superficie y por lo tanto no son células vivas. Esta cornificación de las células epiteliales ocasiona que se acumulen grandes cantidades de sustancias protéicas insolubles en agua, que hacen a la piel resistente a ésta. Esto evita la disipación de los tejidos que se encuentran por debajo. La epidermis no contiene células pigmentarias y en esencia es transparente. El aparente color de la piel viene de la dermis.

La Dermis: La lámina dermal descansa directamente debajo de la epidermis. Esta formada por tejido conectivo elástico. En ella se encuentran nervios, vasos sanguíneos, folículos pilosos, fibras musculares lisas, células pigmentarias y algunas glándulas.

Las glándulas: Las glándulas tegumentarias se abren hacia la superficie de la piel. Ellas secretan fluidos que protegen, lubrican y ayudan a regular la temperatura. Las glándulas que secretan sustancias hacia el exterior del cuerpo también son llamadas glándulas exocrinas. Las glándulas sebáceas y glándulas secretoras de moco ayudan a lubricar la piel. Las glándulas de la sudoración secretan sales y agua, las cuales ayudan la regulación de la temperatura de los animales de sangre caliente.

### **EL SISTEMA ESQUELETICO**

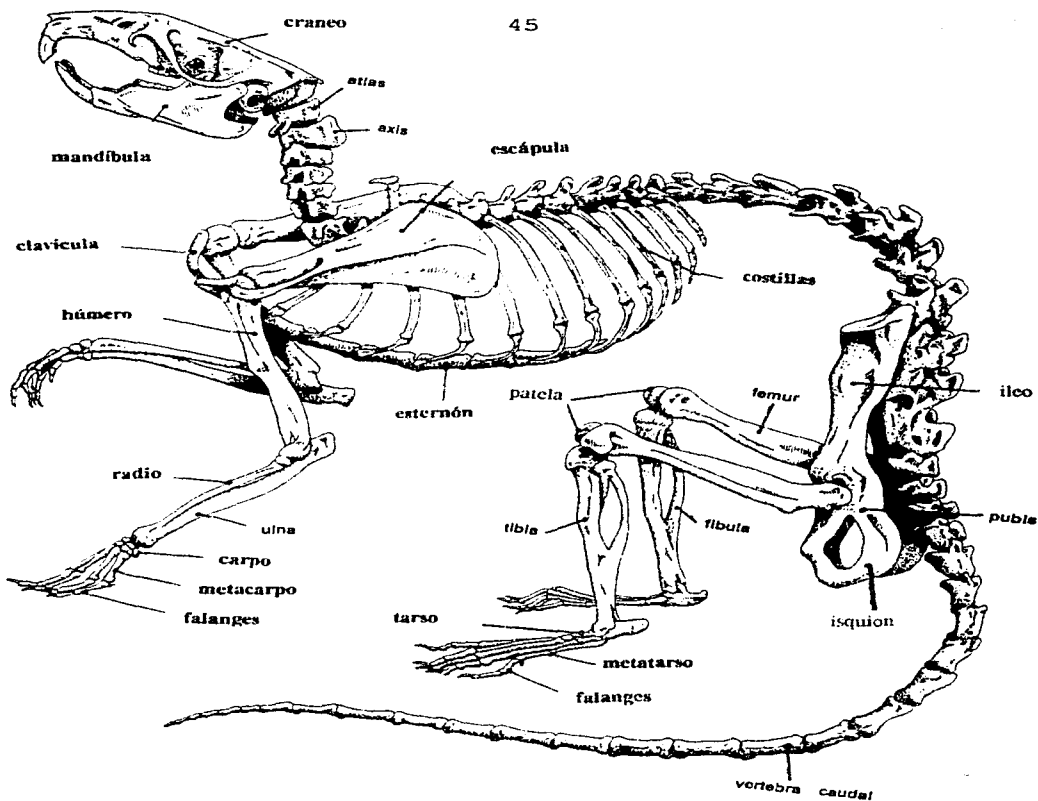
El armazón del cuerpo de un animal se denomina esqueleto. Los crustáceos, los insectos y algunos otros invertebrados tienen un esqueleto externo denominado exoesqueleto. La mayoría de los vertebrados tienen un esqueleto interno o endoesqueleto, el cual es una estructura interna viviente formada por huesos y cartílagos cubiertos por tejidos blandos. Tanto en los vertebrados como los invertebrados el esqueleto determina la apariencia del animal, proporciona apoyo, protección y participa en los movimientos.

El endoesqueleto protege varias partes del cuerpo de los vertebrados. El cráneo, por ejemplo, es una estructura rígida de hueso que cubre el cerebro. El corazón y los pulmones, por otra parte están localizados en una caja semi-rígida pero flexible, formada por el esternón (hueso del pecho), las costillas y las vértebras.

El esqueleto facilita los movimientos a través de proporcionar puntos de inserción para los músculos. Los huesos están unidos unos a otros por articulaciones y ligamentos, así como por músculos que los unen a nivel de las articulaciones con tendones. La contracción muscular ejerce fuerza sobre los huesos que producen movimiento con diferentes niveles de acción.

### **Tejido Esquelético**

Existen dos tipos de tejidos en el esqueleto de los vertebrados, los huesos y los cartílagos. Los vertebrados tienen tanto cartílagos temporales como permanentes. Cuando un animal madura, las células oseas reemplazan a los cartílagos temporales. Los cartílagos permanentes, como los de las costillas, los oídos, los discos intervertebrales, las superficies articulares, la laringe y la tráquea, no son reemplazados. El hueso esta formado por células vivas rodeadas de una matriz calcificada. La matriz proporciona a los huesos rigidez y las células proporcionan a ellos la habilidad para crecer y repararse.



**Figura 5.1** La estructura, localización, la función y los nombres de los huesos hacen que el esqueleto de la rata sea muy similar al de la mayoría de los vertebrados. El conocimiento de la anatomía ósea y de la fisiología es esencial para dominar las habilidades técnicas y la nomenclatura utilizada en la ciencia de los animales de laboratorio.

### Clasificación de los Huesos

Los huesos pueden clasificarse en cuatro tipos con base en su forma. Compare los huesos que se enlistan a continuación con los que se muestran en la Fig. 5.1 (tomado de: Hopkins, D.M. introducción a la Zoología: Un Manual de Laboratorio, edición revisada. Morton Publishing Co., Englewood, Colorado, U.S.A., 1984).

- 1.- Huesos largos: El fémur, la tibia, la Fíbula, el húmero, el radio, la ulna y las falanges.
- 2.- Huesos cortos: Los carpales y los tarsales (muñeca y tobillo).
- 3.- Huesos planos: Las costillas, la escápula y partes huesos del cráneo.
- 4.- Huesos irregulares: Las vertebrae, la mandíbula y partes de la pelvis.

Cada uno de los huesos contiene a su vez varias partes:

- 1.- Diáfisis: La principal porción alargada del hueso.
- 2.- Epífisis: El área especializada de las porciones terminales de los huesos largos donde ocurre el crecimiento en los animales jóvenes.
- 3.- Cavidad medular: El espacio dentro de los huesos largos que contiene médula osea roja y amarilla.
- 4.- Periosteo: Una membrana fibrosa blanquecina que cubre a los huesos en donde no hay superficie articular. El periosteo contiene las células formadoras de hueso y es el tejido al cual se unen los tendones y ligamentos.

Existen dos grupos principales de huesos, los del esqueleto axial y los del esqueleto apendicular. Los huesos del esqueleto axial constituyen el eje central del cuerpo. Los huesos del esqueleto apendicular son las extremidades asociadas al esqueleto axial.

**Esqueleto Axial:** El esqueleto axial consiste del cráneo, las vertebrae, las costillas y el esternón. El cráneo tiene dos partes, la bóveda craneana y la porción facial. La porción facial forma el esqueleto de la cara y las estructuras asociadas, incluyendo la articulación mandibular (quijada). Los dientes se encuentran enraizados en los huesos de la cara, pero estructuralmente son diferentes de los huesos.

La columna vertebral consiste de un grupo numeroso de huesos conocidos como vertebrae. Las vertebrae están unidas unas a otras por ligamentos y tejido amortiguador intervertebral denominados discos. Este arreglo de la columna vertebral permite flexibilidad y así también proporciona estabilidad al cuerpo. La columna vertebral rodea y protege a la médula espinal y soporta el cuerpo de todas

rodea y protege a la médula espinal y soporta el cuerpo de todas las vertebrae.

Una vertebra típica consiste de un cuerpo vertebral, un arco neural debajo del cual pasa la médula espinal y unos procesos que se protegen y sirven como articulaciones o sitio para inserción de los músculos (Fig. 5.2).

La columna vertebral tiene cinco regiones: La cervical (C), la torácica (T), la lumbar (L), la sacra (S) y la coccigea (Cy). Estas regiones son definidas de acuerdo a la localización y la forma de las vertebrae. La formula vertebral de una especie indica la región y el número de vertebrae en cada una de estas partes. Por ejemplo, la formula vertebral del perro es: C7, T13, L7, S3, Cy13-20. Las primeras dos vertebrae cervicales, denominadas atlas y axis, proporcionan articulación entre el cráneo y el resto del cuerpo. Las vertebrae sacras están fusionadas para proporcionar soporte adicional al área pélvica.

La región torácica del esqueleto axil esta hecha del esternón, las costillas y las vertebrae torácicas. El esternón esta constituido de tres huesos, cranealmente el manubrio, un cuerpo central y caudalmente el proceso xifoides. Las costillas son estructuras pares que están divididas por porciones oseas y cartilaginosas. Ellas forman una caja que protege la cavidad torácica, incluyendo el corazón y los pulmones, también protegen parte de la cavidad abdominal. Los pares craneales de las costillas articulan directamente con el esternón y son consideradas costillas verdaderas. Los pares caudales no alcanzan el esternón directamente y son llamadas las costillas flotantes. El espacio entre las costillas es denominado espacio intercostal.

Esqueleto Apendicular: Las extremidades están constituidas por el esqueleto apendicular. El esqueleto apendicular tiene un anillo pectoral, el cual se une a las extremidades anteriores. Este anillo pectoral esta constituido por la porción derecha e izquierda de las escápulas y en la mayor parte de las especies de roedores por clavícula derecha e izquierda. No todas las especies presentan clavícula, tal es el caso de los animales mamíferos domésticos como la vaca, el caballo, los borregos y el perro entre otros. La escápula está adherida a la columna vertebral. Es más, ellas están colocadas en su lugar por los músculos que rodean al pecho. La extremidad anterior está constituida de:

- 1.- El húmero (porción superior del brazo).
- 2.- El radio y la ulna (antebrazo).
- 3.- Los carpales (huesos de la muñeca).
- 4.- Los metacarpales (huesos de la mano).
- 5.- Las falanges (dedos).

La mayoría de las especies tienen el mismo número de huesos en el brazo, pero el número y forma de los carpales, metacarpales y falanges varía entre las especies.

El cinturón pélvico es el esqueleto apendicular adherido a la extremidad posterior. Esta constituido de tres huesos fusionados: el pubis, el ileo y el isquion. Estos huesos están adosados dorsalmente a la columna vertebral en la porción sacra.

La extremidad inferior esta hecha de:

- 1.- El fémur (muslo).
- 2.- La tibia y la fíbula (pierna inferior).
- 3.- La patela (articulación de la rodilla).
- 4.- Los tarsales (huesos del tobillo).
- 5.- Los metatarsales (huesos del pie).
- 6.- Las falanges (dedos del pie).

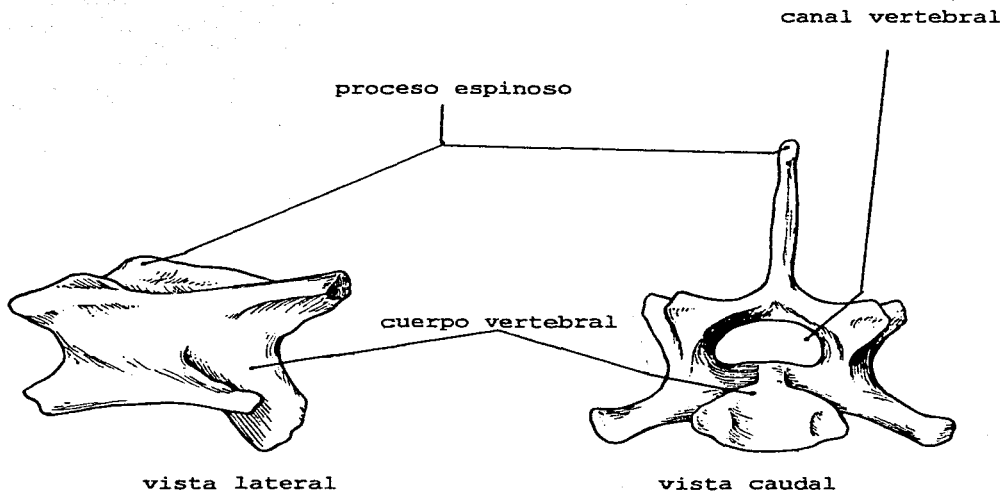
#### **Articulaciones y su Movimiento**

Los huesos están unidos de tal manera que permiten una gran variedad de movimientos específicos. La articulación de la muñeca, por ejemplo permite movimientos laterales y rotacionales en cualquier dirección. La articulación del codo no permite movimientos rotacionales y permite movimientos laterales en un solo plano. Los huesos fusionados por las articulaciones de la columna vertebral mantienen la flexibilidad de la espalda de una persona erecta con un mínimo de actividad muscular y con un mínimo de gasto de energía.

Los siguientes términos generales son aplicados a movimientos articulares.

- 1.- Rotación: Un movimiento de pivoteo como el que sucede cuando se mueve la cabeza de un lado a otro.
- 2.- Flexión: El dobléz de la articulación por ejemplo del codo.
- 3.- Extensión: Apertura de la articulación (la oposición a la flexión).
- 4.- Abducción: El movimiento de un hueso alejándolo de la línea media del cuerpo.
- 5.- Aducción: El movimiento hacia la línea media del cuerpo opuesto a la abducción).





**Figura 5.2** Las vertebrae varían de forma, dependiendo de la unión con el músculo local y la interacción con los huesos y tejidos. Esta típica vertebra del cuello es uno de los tantos huesos semejantes que llevan y protegen la médula espinal.

## SISTEMA MUSCULAR

El tejido muscular se encuentra en la mayor parte del cuerpo ya sea en un u otra forma. Existen tres diferentes tipos de tejidos: El tejido muscular esquelético o estriado, el liso y el cardíaco.

El tejido muscular es capaz de contraerse y relajarse, esto lo hace ser el responsable de los movimientos del cuerpo. Los movimientos musculares controlan la locomoción, el mantenimiento de la postura, el paso del alimento a través del sistema digestivo, la propulsión de la sangre a través del sistema circulatorio, e incluso la habilidad de los ojos para enfocar. Debido a que las células musculares son numerosas y activas, mucho del calor corporal esta proporcionado por el tejido muscular. Parte de la energía producida es utilizada por la célula y ésta se pierde como calor transmitida a los tejidos circundantes.

### Clasificación del Tejido Muscular

Cuando el tejido muscular se contrae o acorta, se producen movimientos. Los músculos usualmente se contraen con la estimulación de las señales recibidas por los nervios. Los estímulos conscientes o estímulos externos producen el movimiento de los músculos voluntarios como aquellos asociados a los movimientos de las extremidades. Los estímulos inconscientes o internos ocasionan los movimientos involuntarios como son los que participan en la respiración, la circulación de la sangre o la digestión.

Los tres tipos de tejidos musculares que se encuentran en el cuerpo de los vertebrados sirven para tres funciones diferentes.

**Tejido Muscular Esquelético:** La función primaria del tejido muscular esquelético es el movimiento de los huesos. Los músculos están constituidos de numerosas fibras (células) adheridas a los huesos por tendones. Cuando un músculo se contrae o se acorta ocasiona un movimiento en particular, existe por otra parte usualmente otro músculo que se relaja para permitir este movimiento. Los ejemplos familiares para nosotros son los bíceps y los músculos tríceps. Para flexionar el antebrazo, los bíceps se contraen mientras que los correspondientes tríceps se relajan. Para extender el antebrazo, los tríceps se contraen mientras los bíceps se relajan.

Debido a la apariencia microscópica, los músculos esqueléticos también son llamados estriados. Si únicamente ocurre un movimiento ligero, son pocas las fibras que se contraen. Un movimiento vigoroso requiere la estimulación de un número mayor de fibras. Los músculos estriados son capaces de tener contracciones fuertes, pero comparadas con las del músculo liso éstos se fatigan muy fácilmente. Los músculos rara vez se relajan completamente. La mayoría de los músculos estriados y lisos usualmente permanecen en

un estado de ligera contracción. Este estado de ligera contracción ayuda al animal a mantener su postura normal.

**Tejido Muscular Liso:** El tejido muscular liso se contrae y se relaja más lentamente y menos vigorosamente que el tejido muscular estriado. Sus contracciones son involuntarias. Este es el tipo de tejido muscular que constituye las paredes de los vasos sanguíneos y de los órganos del aparato digestivo y del aparato reproductor.

**Tejido Muscular Cardíaco:** Es un tipo especializado de tejido muscular estriado, el músculo cardíaco se presenta solamente en el corazón. Este es el único tipo de músculo capaz de contraerse rítmicamente y continuamente a través de toda la vida del animal. Las fibras musculares cardíacas están interconectadas por una red continua. Entonces los estímulos que se aplican a cada una de estas fibras se diseminan hacia otras. El músculo cardíaco normalmente se autoestimula, produciendo el bombeo continuo del corazón.

### **EL SISTEMA CIRCULATORIO**

El mantenimiento de la actividad celular depende de la capacidad para captar oxígeno y nutrientes y de la remoción del bióxido de carbono y otros desechos metabólicos. Esta es la función primaria del sistema circulatorio. El sistema circulatorio también transporta hormonas y otras sustancias químicas que ayudan a regular las funciones corporales. Las células del cuerpo no están en contacto directo con el sistema circulatorio. Los gases que se respiran, los nutrientes y otros solutos difunden a través de las paredes de los capilares hacia el fluido extracelular que baña a las células.

#### **La Sangre**

El medio de transporte dentro del sistema circulatorio es la sangre. Esta compuesta de un líquido o plasma y de varios tipos de elementos celulares que flotan libremente en el plasma.

En algunos animales el plasma comprende el 55% del total del volumen sanguíneo. El 45% restante pertenece a las células de la sangre y esta compuesto de eritrocitos (células sanguíneas rojas), leucocitos (células sanguíneas blancas) y trombocitos (plaquetas).

El tipo más abundante de células sanguíneas son los eritrocitos. Los eritrocitos contienen muchas moléculas de hemoglobina, las cuales son capaces de combinarse con el oxígeno y el dióxido de carbono. Así es como la hemoglobina ayuda al transporte de los gases respiratorios. En los mamíferos, las células sanguíneas rojas se producen principalmente en la médula ósea de los huesos, especialmente en los huesos largos. La vida de las células rojas varía con cada especie pero generalmente es de unos cuantos meses cuando mucho. Las células sanguíneas rojas de los mamíferos no contienen núcleo.

Los leucocitos son células menos abundantes que las células rojas. Muchos leucocitos son capaces de realizar el proceso denominado fagocitosis, en el cual ellos engolfan y digieren microorganismos y otras partículas extrañas. La mayor parte de los leucocitos son móviles y son capaces de moverse a través de las paredes de los capilares. Ellos migran con movimientos similares a los de las amibas, atraídos por las sustancias que ellos ingieren.

Se han identificado muchos tipos de leucocitos. Estos son, sin embargo, de dos tipos principales, granulocitos y células linfoides. Los granulocitos también llamados células polimorfonucleares (PMNS), son células relativamente grandes. Sus núcleos son multilobulados y su citoplasma contiene gránulos microscópicos. Existen tres tipos de granulocitos basados en sus propiedades de tinción: los neutrófilos, los eosinófilos y los basófilos. Los neutrófilos engloban y destruyen bacterias invasoras y células necróticas (muertas). Los eosinófilos normalmente no son tan abundantes, pero su número se presenta en la presencia de infecciones parasitarias y reacciones alérgicas. Los basófilos raramente se encuentran en los vasos sanguíneos de los animales sanos. Son más abundantes en lesiones relacionadas con reacciones inflamatorias.

Las células linfoides tienen un núcleo central y redondo (no lobulado) y carecen de gránulos citoplasmáticos. Ellos se encuentran comúnmente en los vasos linfáticos y en los nódulos linfoides. Las células linfoides más grandes se denominan monocitos y como los neutrófilos tienen la capacidad de fagocitar. Las células sanguíneas blancas más pequeñas se denominan linfocitos. Son relativamente numerosas y participan en la formación de anticuerpos y otros procesos inmunes.

Los trombocitos son células pequeñas esenciales para la coagulación. En la mayor parte de los vertebrados, estos son de apariencia de huso, pero en los mamíferos aparecen como pequeños fragmentos citoplasmáticos denominados plaquetas. Las plaquetas ayudan a reducir la pérdida de sangre, adheriéndose a las paredes de los vasos sanguíneos en el sitio en donde fueron dañados. Ellas liberan sustancias químicas que ayudan a la formación de coágulos o tapones durante la hemostasis.

#### **Las Estructuras del Sistema Circulatorio**

En los vertebrados simples, como los peces, el corazón es una estructura simple tubular compuesta de cuatro cámaras. La mayoría de los reptiles tienen un corazón de tres cámaras el cual bombea a todas las partes del cuerpo. En los mamíferos el corazón tiene un doble sistema de bombeo, uno para bombear la sangre a través de los pulmones y otro para bombearla a través del resto del cuerpo.

El Corazón: El corazón de los mamíferos es una cámara de cuatro compartimientos constituida por tejido muscular, este descansa

dentro de la cavidad torácica y dentro de un saco de fino tejido conectivo denominado pericardio.

Las paredes del corazón están formadas por tres capas separadas de tejido: el miocardio o músculo del corazón; el epicardio el cual cubre la superficie externa del miocardio; y el endocardio, el cual delimita la porción interior de las cámaras del corazón. El endocardio es una lámina delicada de células las cuales delimitan por completo la superficie interna de los vasos del sistema circulatorio.

El corazón (Fig.5.3) consiste de una mitad derecha y una mitad izquierda, cada una contiene un atrio y un ventrículo. El atrio izquierdo recibe la sangre que entra al corazón proveniente de los pulmones y el atrio derecho recibe la sangre del resto del cuerpo. La contracción atrial empuja la sangre hacia los ventrículos. El ventrículo se contrae repeliendo la sangre del ventrículo derecho hacia los pulmones y del ventrículo izquierdo hacia el resto del cuerpo. Los atrios son estructuras de paredes delgadas que bombean la sangre bajo relativamente poca presión, únicamente para mandarla al ventrículo. Las paredes de los ventrículos por otro lado son considerablemente gruesas, dado que ellas deben mover la sangre a una distancia mucho mayor. La bomba ventricular izquierda bombea la sangre a todos los sistemas del cuerpo. Por lo que su pared es mucho más gruesa que la del lado derecho (pulmonar), el cual circula la sangre únicamente a los pulmones para reoxigenación de las células sanguíneas rojas. Las diferentes cámaras del corazón están separadas por válvulas, las cuales evitan reflujos sanguíneos.

El corazón en si mismo requiere de oxigenación y otros nutrientes para mantener la constante actividad de las células miocárdicas. La sangre es suministrada por las arterias coronarias. Las arterias coronarias se distribuyen a lo largo de la superficie del corazón emitiendo ramificaciones hacia pequeños vasos y eventualmente a capilares, que suministran la sangre al músculo cardíaco en sí. Esta porción de la sangre regresa al atrio izquierdo a través de las venas coronarias.

El corazón tiene un sistema especial de neuronas que controlan rítmicamente la secuencia de contracción y que hacen al ciclo cardíaco. Esta actividad eléctrica es medida y registrada utilizando instrumentos denominados electrocardiógrafos (ECG).

**Los Vasos Sanguíneos:** Existen tres tipos de vasos sanguíneos, las arterias que llevan la sangre del corazón, las venas que regresan la sangre hacia el corazón y vasos capilares que conectan a las arterias con las venas (Fig. 5.4). Debido a sus necesidades, las arterias son de paredes mucho más gruesas que las venas, dado que ellas llevan sangre bajo alta presión mientras que la distribuyen a los capilares. La mayor arteria del cuerpo es la aorta, la cual acarrea la sangre desde el ventrículo izquierdo hacia su distribución al resto del cuerpo. Los vasos sanguíneos capilares

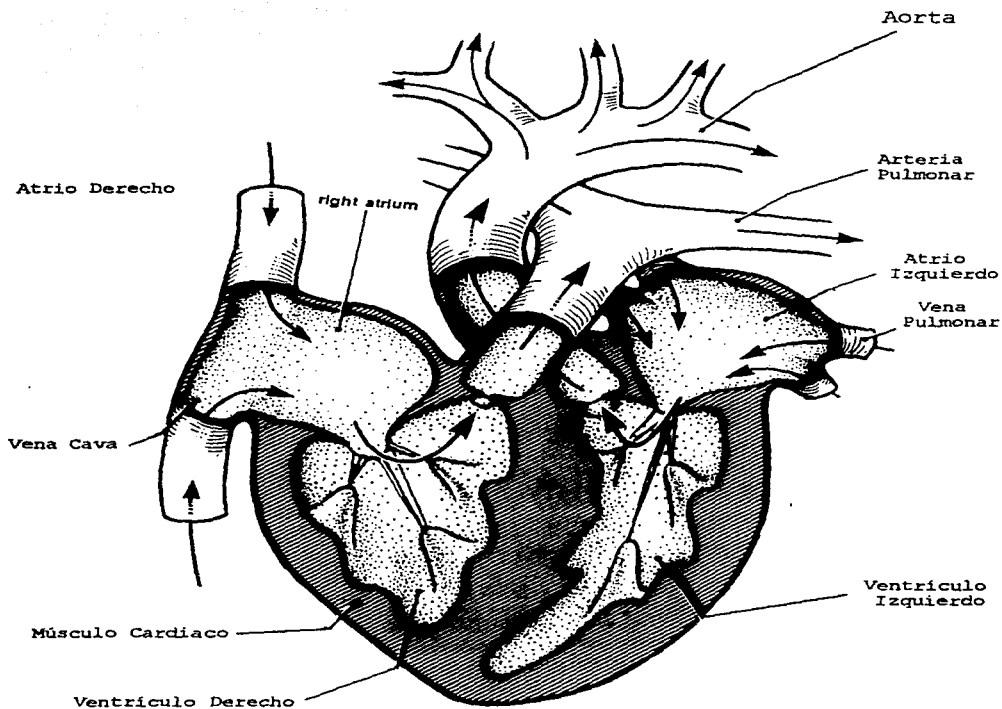
son los vasos sanguíneos más pequeños que existen, están distribuidos a través de la mayor parte de los tejidos corporales. Las paredes de los vasos capilares sanguíneos, son delgadas y altamente permeables para sustancias disueltas en el plasma. Es a nivel de las paredes capilares que ocurre el intercambio de gases respiratorios, nutrientes, hormonas, iones y otras sustancias. Todas estas sustancias se mueven a través de las paredes de los capilares sanguíneos en respuesta a la concentración y gradientes de presión. Por ejemplo, cuando las células vacían sus suministros de oxígeno en los fluidos tisulares, el oxígeno de la sangre difunde a través de ella para reemplazarlo. El dióxido de carbono producido por las células se difunde a los tejidos y entra en la sangre, en los capilares donde su concentración es mucho menor. De los capilares la sangre pasa hacia el sistema venoso, primero a través de vénulas, después a través de venas de mayor tamaño. Las venas tienen paredes mucho más delgadas que las de las arterias y son mucho más dilatables. Ellas acarrean la sangre a muy baja presión comparándolas con las arterias. El sistema venoso actúa como un reservorio de sangre en el cuerpo, mantiene aproximadamente el 60% del volumen total sanguíneo. La mayoría de los movimientos de la sangre a través de las venas se deben a la presión que ejercen los músculos sobre las venas adyacentes apretándolas moviendo el flujo de la sangre. Las venas de las extremidades contienen válvulas de un solo sentido, lo que evita el reflujo. Esto ayuda a que la sangre avance hacia el atrio derecho. La acción de los músculos produce u ocasiona que la sangre avance paso a paso de una válvula a otra hasta que alcance el corazón. La vena más grande del cuerpo llamada vena cava, se encuentra próxima a la aorta. Esta vena vacía su contenido en el atrio derecho del corazón.

#### **Control de la Circulación**

Existen muchas razones por las cuales la sangre fluye de una parte a otra del cuerpo a un tiempo determinado. El mecanismo de control de la circulación es muy complejo. Es importante comprender que la sangre fluye de un área donde la presión es alta a un área donde la presión es baja. En la figura 5.5 se puede seguir el flujo de la sangre desde el corazón a través del cuerpo y de regreso hacia el corazón.

El ventrículo izquierdo es la fuente de la mayor presión. La sangre oxigenada en el atrio izquierdo fluye a través de la válvula mitral o aureoventricular izquierda y dentro del ventrículo izquierdo. Conforme el flujo sanguíneo penetra se le detiene en el ventrículo. A esto se le llama diástole. La válvula mitral se cierra justo cuando el ventrículo se comienza a contraer. Esto es lo que se refiere como sístole. (La medición de la presión sanguínea se realiza en la circulación periférica registrándose la presión de la diástole y de la sístole). Conforme el ventrículo se llena con sangre, la válvula de la aorta (válvula aórtica) permanece cerrada debido a que la presión en la aorta es mayor que en el ventrículo.

Conforme el ventrículo se contrae, la presión de la sangre en él se incrementa. Cuando la presión del ventrículo comienza a ser mayor en la aorta, la válvula aórtica se abre, permitiendo a la sangre entrar en la aorta. La válvula aórtica después se cierra, evitando el reflujo. La sangre fluye a través de la aorta hacia las arterias mayores, a través de arteriolas y dentro de capilares de los tejidos y de los órganos. La presión decrece conforme el flujo sanguíneo se aleja de la aorta.



**Figura 5.3** El corazón de los mamíferos contiene cuatro cámaras, estas bombean la sangre hacia los pulmones donde la sangre se oxigena y libera el bióxido de carbono. El corazón también bombea sangre oxigenada hacia el resto del organismo, donde el oxígeno se utiliza en los tejidos y se retoma nuevamente bióxido de carbono utilizado por las células.



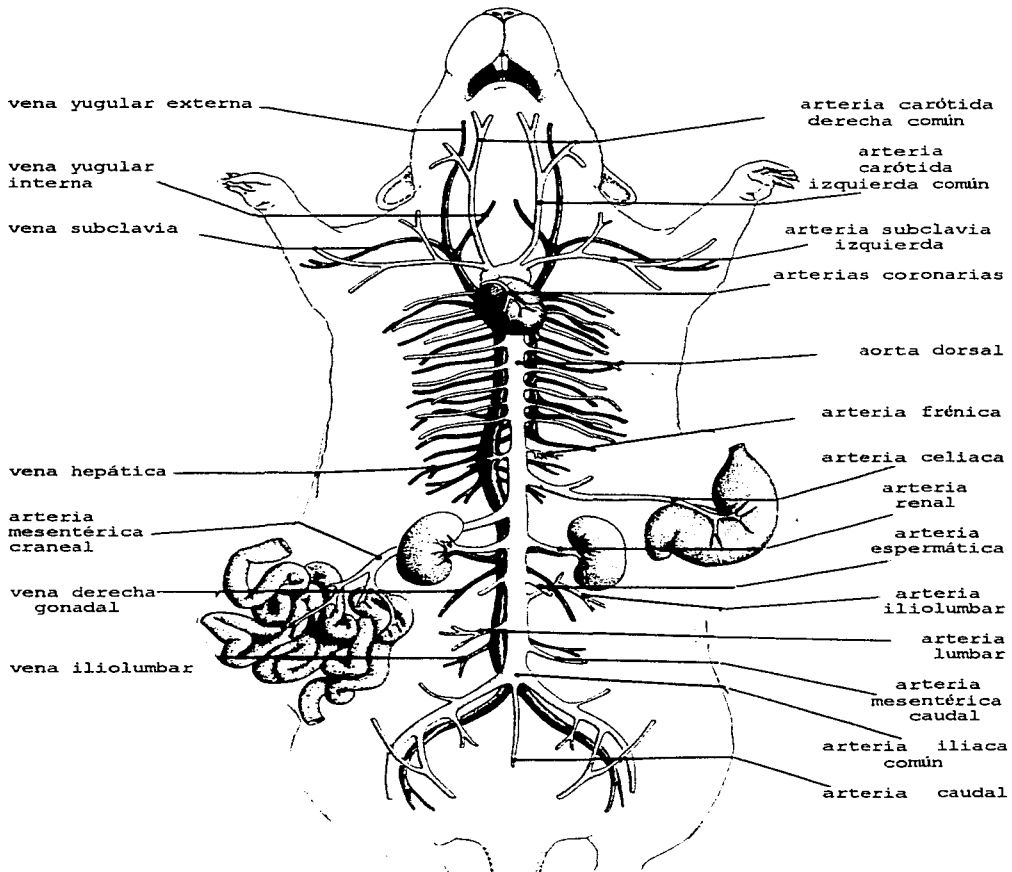
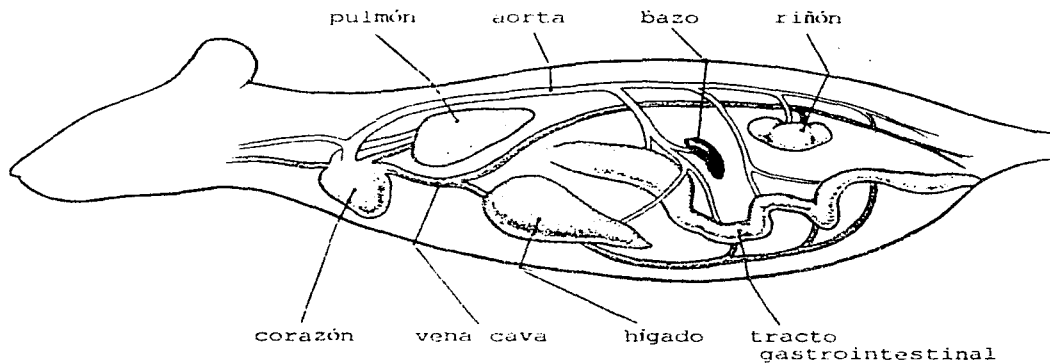


Figura 5.4 El sistema circulatorio de la rata. Las arterias se muestran sin colores y las venas se muestran en color oscuro.



**Figura 5.5** La mayor parte de los órganos del cuerpo de los mamíferos comparten un aporte sanguíneo común, el cual les acarrea los nutrientes, hormonas y las células blancas.

Para regresar al corazón, la sangre fluye de los tejidos capilares hacia las vénulas, por pequeñas venas hacia la vena cava. De la vena cava la sangre fluye hacia el atrio derecho y a través de la válvula atrio-ventricular derecha o válvula tricúspide pasa al atrio derecho del ventrículo derecho. Desde el ventrículo derecho la sangre es bombeada a través de la arteria pulmonar. Esta es la única arteria que transporta sangre no oxigenada. La sangre entonces es mandada a través de la arteria a los pulmones en donde fluye a través de los capilares pulmonares que delimitan los alvéolos, en este lugar la sangre es oxigenada. De aquí, la sangre oxigenada pasa hacia las vénulas pulmonares y luego hacia las venas pulmonares, de esta forma regresa la sangre al atrio izquierdo donde una vez más entrará a la circulación corporal.

### **SISTEMA LINFÁTICO**

El sistema linfático es una extensión del sistema circulatorio. Este transporta el líquido linfático que regula el balance entre los tejidos y el plasma sanguíneo.

#### **Partes del Sistema**

**La linfa:** La linfa es el líquido que se encuentra dentro del sistema linfático. La composición de la linfa es similar a la del líquido intercelular y al plasma. La linfa y el líquido intersticial contienen una muy baja concentración de proteínas, más baja que la del plasma.

**Vasos Linfáticos:** Los vasos linfáticos llevan linfa. Estos son muy similares a las venas del sistema venoso tanto en estructura como en organización. Estas estructuras se originan en el espacio intercelular como capilares linfáticos, se unen para formar grandes vasos, los cuales sucesivamente se van convirtiendo en vasos aún mucho mayores. Los vasos linfáticos se unen al principal conducto linfático, a lo largo del cual existen un gran número de linfonodos. Estos conductos vacían su contenido en el sistema venoso, en donde la vena cava llega al corazón. La linfa se mueve lentamente a través de los vasos linfáticos, pasa por una serie de válvulas de un solo sentido, que son presionadas continuamente por los movimientos que se realizan con el tejido muscular esquelético.

**Los Linfonodos:** Estos son acumulos de células sanguíneas blancas las cuales forman grupos en diferentes partes a lo largo del trayecto de los principales conductos linfáticos. La linfa pasa a través de los sinusoides de cada nodo. Durante su paso la linfa es limpiada por actividad fagocítica de células blancas que destruyen bacterias y otras sustancias potencialmente dañinas que pudieran encontrarse en los fluidos corporales.

### Como Trabaja el Sistema Linfático

Las paredes de los vasos linfáticos son permeables al agua y a las sustancias disueltas en el agua. En condiciones normales la presión a ambos lados de las paredes de los capilares es casi la misma. Por lo tanto hay muy poca pérdida de fluidos hacia los tejidos del órgano por donde pasa el capilar. Cualquier incremento en la presión capilar ocasiona movimiento del líquido hacia los tejidos. El sistema linfático proporciona un mecanismo para el regreso de los líquidos al sistema circulatorio que se perdieron.

### SISTEMA RESPIRATORIO

La respiración es un proceso mecánico que favorece el intercambio de gases entre el organismo y el medio ambiente. En su forma básica, la respiración ocurre a nivel celular. Es el intercambio de gases entre la célula y los tejidos alrededor de ella.

La respiración es un proceso mecánico que depende de los gradientes de presión entre los tejidos y la sangre y entre la sangre y los gases inspirados. El sistema circulatorio transporta gases del medio ambiente externo, a través de los pulmones, para las estructuras que efectúan respiración celular.

Los peces y las larvas de los anfibios respiran principalmente por branquias, aunque algunos peces y algunos anfibios adultos toman parte de su oxígeno directamente a través de la piel. Todos los vertebrados terrestres respiran a través de pulmones. La mayor parte de las aves respiran a través de una serie de sacos distribuidos a través del cuerpo que participan en los procesos de transporte del aire del medio externo hacia los pulmones. Sin importar la estructura empleada, el principio es el mismo, el intercambio de gases a través de la difusión. En los vertebrados el sistema respiratorio también participa en la vocalización, en la regulación de la temperatura, en la eliminación del agua y en el caso de las aves aligerar su peso.

### Anatomía del Sistema Respiratorio

La estructura del sistema respiratorio de los vertebrados se presenta en la Figura 5.6.

**Nariz:** En la mayor parte de los vertebrados la nariz es externa y anterior a la mayor parte de las estructuras del cuerpo. Esta presenta dos aberturas o nostrilos que permiten directamente la comunicación con estructuras internas como la faringe. En los pasajes nasales se inspira aire y este es filtrado, humedecido y calentado. La nariz y otras estructuras respiratorias están delimitadas internamente por una membrana mucosa cubierta de proyecciones similares a pelos. Estas proyecciones, o cilios, ayudan a mover hacia afuera las impurezas atrapadas en el sistema respiratorio en el aire inspirado.

**Faringe:** La faringe, está localizada en la unión de la nariz con la boca y se extiende hasta la glotis (la abertura anterior de la tráquea) y el esófago. Tanto el aire como la comida pasan a través de la faringe. Durante la deglución, sin embargo la glotis es cubierta por una capa de tejido cartilaginoso llamado epiglotis. Esta estructura evita que la comida entre a la tráquea.

**La Laringe:** Esta es una estructura cartilaginosa similar a una caja, la glotis y la epiglotis son parte de ella. Esta estructura se localiza justo por debajo de la faringe. La laringe también contiene las cuerdas vocales y los músculos especiales con los que los animales producen sus sonidos característicos o vocalizaciones.

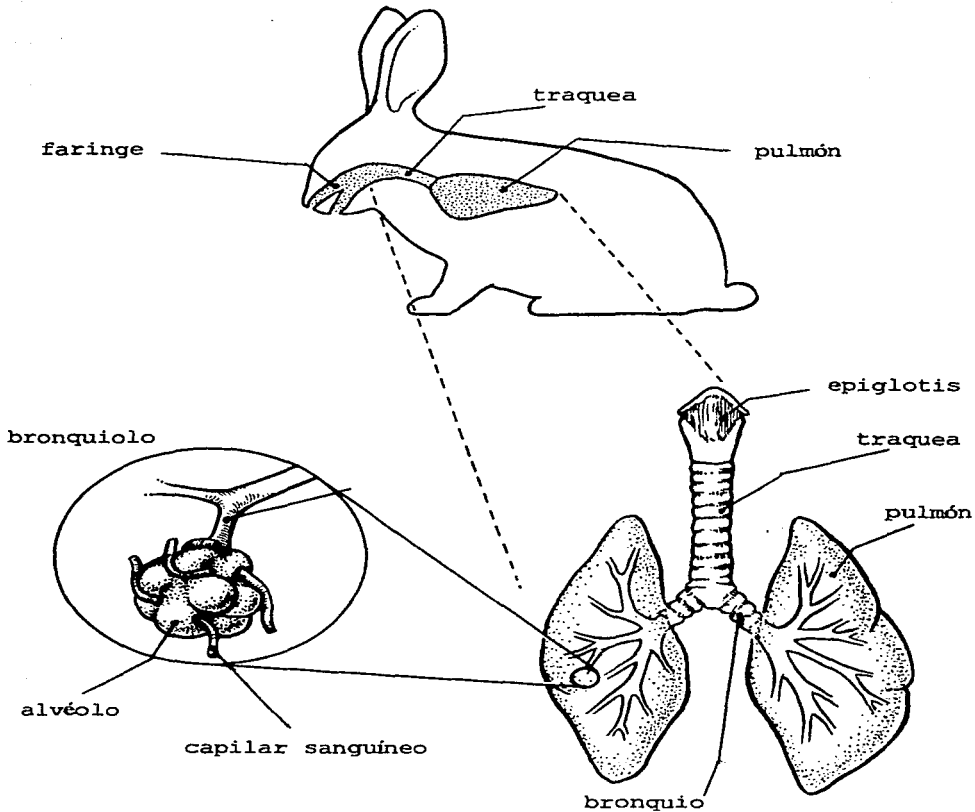
**La Traquea:** La traquea es un tubo rígido, compuesto de anillos cartilagosos en forma de C y tejido muscular liso. Su rigidez mantiene abiertos los pasajes aéreos a los pulmones.

**Los Bronquios:** Las primeras ramificaciones de la traquea son similares en estructura a la traquea y son denominados bronquios. Un bronquio penetra a cada pulmón. De cada bronquio surgen ramificaciones o pequeños brazos que se denominan bronquiolos. Los bronquiolos a su vez se subdividen en estructuras cada vez más pequeñas que eventualmente alcanzan los ductos alveolares. Estas estructuras son de tamaño microscópico y terminan en los alvéolos.

**Los Alvéolos:** El pulmón de los vertebrados contiene varios millones de alvéolos, los cuales son sacos terminales y distales a la terminación de cada conducto alveolar. Los alvéolos están compuestos de una lámina epitelial simple rodeada por una fina red de capilares sanguíneos. A nivel del espacio entre las células alveolares y las células de las paredes de los capilares se absorbe el oxígeno y pasa a la sangre, a este mismo nivel el bióxido de carbono es eliminado.

**Los Pulmones:** Los pulmones se encuentran en la cavidad torácica. Cada lóbulo se encuentra cubierto por una membrana transparente saciforme denominada pleura vicerál. Esta descansa en oposición a la pleura parietal, otro saco membranoso que delimita completamente la cavidad torácica. Estas finas láminas de tejido conectivo están separadas una de otra por la presencia de fluido pleural. Este fluido lubrica la interfase de las dos láminas, permitiendo claramente los movimientos sin fricción de los pulmones en contra de la pared de la cavidad torácica.

**La Cavidad Torácica:** La cavidad torácica es una caja semirígida compuesta por el esternón, las costillas y la espina torácica. En la mayoría de las especies está separada de la cavidad abdominal por el diafragma, un delgado músculo membranoso. La acción de los músculos del diafragma produce gradientes de presión que ayudan a mover el aire hacia adentro y hacia afuera de los pulmones.



**Figura 5.6** Para comprender la fisiología de los órganos de los diferentes animales de laboratorio se requiere el conocimiento de la anatomía macroscópica y microscópica, las cuales se ilustran en estos diagramas de pulmón.

### Los Mecanismos de Ventilación

El aire atmosférico se mueve dentro y hacia afuera de los pulmones en respuesta a los gradientes de presión. Si la presión atmosférica es mayor que la presión en los pulmones, el aire fluye hacia adentro. Si la presión en los pulmones es mayor que la presión atmosférica, el aire fluye hacia afuera.

La inspiración es acompañada por un incremento en el volumen de la cavidad torácica, lo cual resulta en un decremento de la presión interna. La mayor parte del incremento del volumen de la cavidad torácica es producido por las contracciones rítmicas del diafragma. Cuando el diafragma está en reposo tiene una forma similar a la de un domo (convexo en dirección craneal) y cuando se contrae se convierte en una estructura tensa y plana. Cuando se requiere una gran cantidad de aire, como en el ejercicio, los músculos de las paredes de la cavidad torácica y otros músculos ayudan a aumentar el volumen de la cavidad separando las costillas. Esto es, aumentan el volumen mucho más de lo que pudiera hacer por sí solo el diafragma. Esto permite que el tejido elástico de los pulmones participe en la expulsión del aire. Entre más profunda debe ser más rápida la exhalación, la contracción de los músculos abdominales y el empuje hacia abajo de las costillas de la cavidad torácica a su posición normal. Esto ocasiona que los órganos abdominales presionen contra el diafragma. Todo esto da como resultado una rápida y más completa expulsión del aire de los pulmones.

### Intercambio de Gases y su Transporte por la Sangre

El intercambio de oxígeno y dióxido de carbono entre la sangre y el aire en los alvéolos, sucede por difusión. El aire y la sangre en los alvéolos están únicamente separados por una muy fina membrana de la pared de los capilares y de los alvéolos. Ambas membranas son muy permeables al oxígeno y dióxido de carbono. La sangre venosa pulmonar llega a las membranas deficiente en oxígeno y rica en dióxido de carbono. Los gases son intercambiados conforme la sangre pasa a través de los capilares. La sangre transporta el oxígeno adherido principalmente a las moléculas de hemoglobina, mientras transportan dióxido de carbono de diferentes maneras. El oxígeno puede estar adherido a la hemoglobina o simplemente disuelto en el plasma.

### EL SISTEMA DIGESTIVO

Entre los animales de laboratorio existen tres tipos básicos de animales según sus características alimenticias, carnívoros, omnívoros y herbívoros. Los carnívoros, como los perros, gatos y hurones son comedores de pellejos o carne. Los omnívoros como el cerdo, los primates y la mayoría de los roedores, comen tanto vegetales como carne. Los herbívoros, como los conejos, el cobayo, el caballo, la oveja y la vaca únicamente comen alimentos vegetales.

Los herbívoros y algunos omnívoros utilizan cantidades importantes de forraje en su dieta. El forraje contiene muy poco

material nutritivo pero grandes cantidades de celulosa, así como de otros carbohidratos. Una gran variedad de características anatómicas permiten a los herbívoros romper y utilizar parte de este forraje. En muchos de los herbívoros parte de su tracto gastrointestinal desarrolla un proceso de fermentación, el cual lo ayuda a la digestión del forraje. En los rumiantes, como la cabra, la vaca y la oveja, este proceso ocurre en la parte del estómago denominada rumen (Fig. 5.7). En los conejos, los cobayos y los caballos esto ocurre en el ciego. Estos órganos especiales proporcionan un ambiente ideal para la población de algunos tipos de microorganismos que fermentan la comida de los animales. Los microorganismos y los animales obtienen de esta forma un beneficio recíproco. Los animales proporcionan un hogar para los microorganismos y los microorganismos ayudan a romper el forraje y convertirlo en materiales nutritivos para el animal.

#### **Anatomía del Sistema Digestivo y su Funcionamiento**

El tracto gastrointestinal (GI) consiste de un tubo largo llamado canal alimentario. Este está formado de varios órganos, como el estómago y los intestinos, teniendo otros órganos adyacentes como son el hígado y el páncreas que comunican directamente con él (Fig. 5.8). El tracto gastrointestinal es precedido cranealmente por los labios, los dientes y la lengua. La parte interna del tracto gastrointestinal está delimitada por tejido epitelial.

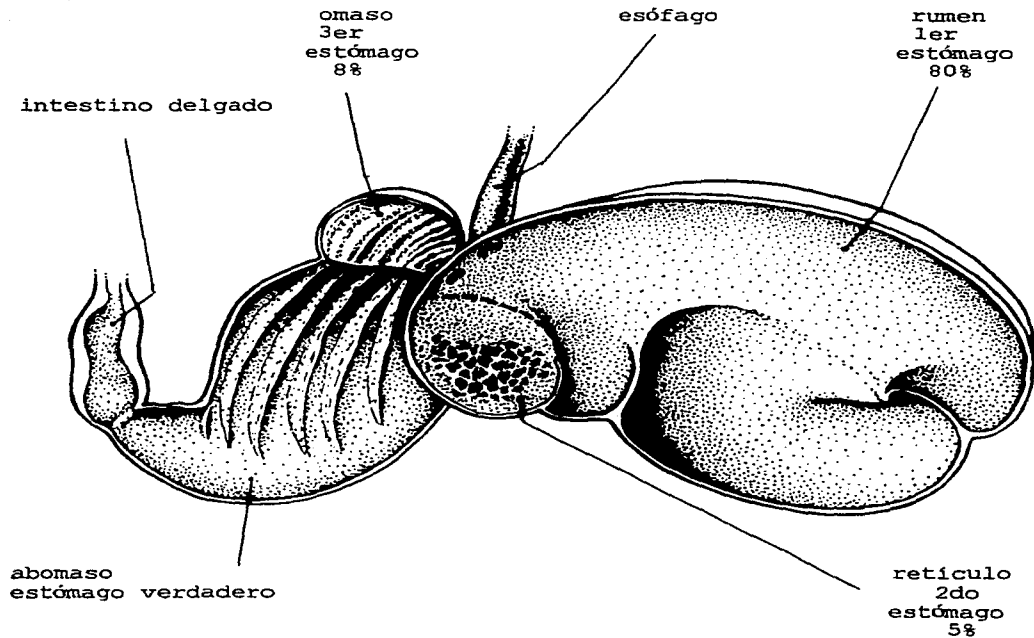
Una vez que la comida entra a la boca, los dientes, la lengua y la saliva inician el proceso de digestión de la comida. La lengua manipula la comida en la boca mientras que los dientes la muelen y la mastican rompiéndola en pequeños pedazos. La saliva, secretada por las glándulas salivales, humedece y lubrica la comida facilitando su paso hacia el esófago. Las enzimas en la saliva inician la digestión química de la comida. Esto ayuda a su preparación para futuros procesos digestivos de tipo enzimático. La comida humedecida y pulverizada es deglutida y pasa a través de la faringe al esófago.

El esófago conecta la faringe con el estómago. Las contracciones similares a una ola que se producen en la pared del esófago se denominan peristalsis y ayudan a mover el paso del alimento hacia el estómago. Los carnívoros y la mayor parte de los animales omnívoros tienen únicamente un compartimiento gástrico. Algunos herbívoros (rumiantes) tienen cuatro compartimientos especializados en los cuales la fermentación microbiana ocurre, el rumen, el retículo, el omaso y el abomaso (Fig. 5.7).

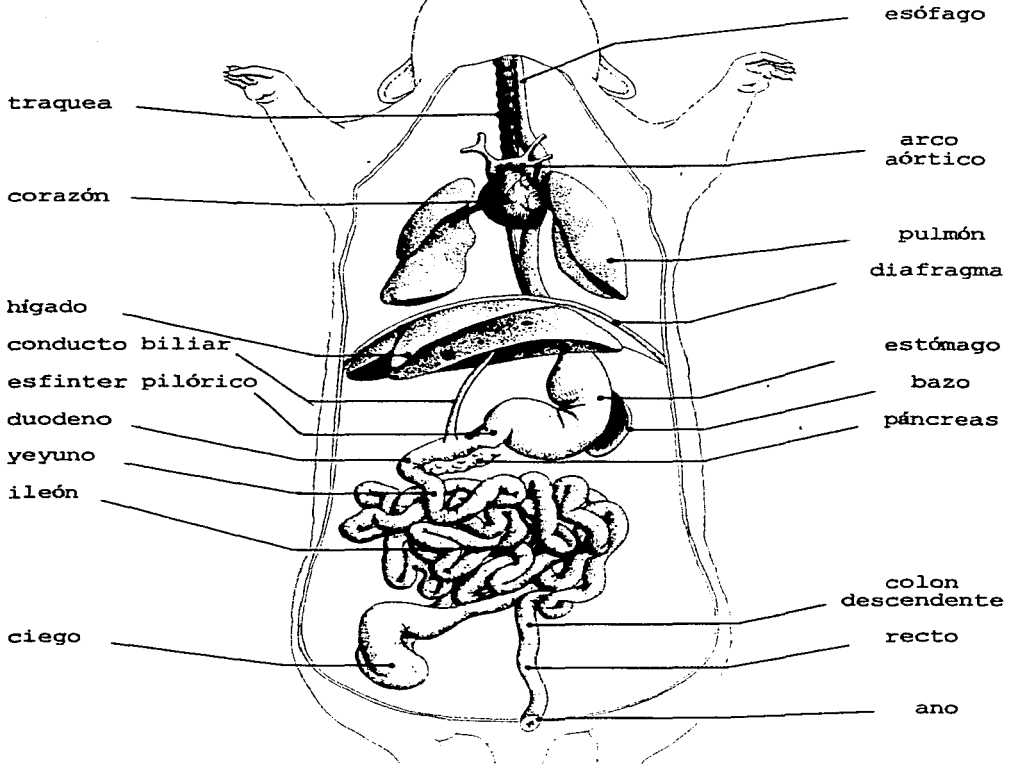
Únicamente el abomaso es un estómago verdadero, capaz de secretar enzimas digestivas. Los otros compartimientos participan principalmente en los procesos de fermentación. Los herbívoros como los conejos, los cobayos, los hamsters, los caballos y los monos comedores de hojas, tienen zonas pregástricas especializadas para la fermentación. El principal propósito del estómago es el de



almacenamiento. La mayor parte de las proteínas animales pasan al estómago prácticamente sin ningún proceso de digestión química. El músculo liso de las paredes del estómago se contrae en ondas, favoreciendo la mezcla del contenido estomacal con secreciones gástricas. El resultado es una mezcla denominada quimo o ingesta.



**Figura 5.7** Los animales con un compartimento gástrico simple no pueden digerir los vegetales como la paja, la cual contiene una gran cantidad de celulosa. Los compartimientos gástricos de los ruminantes los ayudan a digerir la comida de este tipo.



**Figura 5.8** Representación de los órganos internos de la rata mostrando la localización aproximada de los órganos más importantes de un mamífero.

La ingesta pasa a través de la apertura distal del estómago, denominada esfínter pilórico y a lo largo del intestino delgado. La longitud total y la proporción relativa de cada sección del intestino delgado varía entre las especies. La primera sección del intestino delgado es el duodeno. Esta es una sección en la cual la mayor parte de la digestión ocurre. Las enzimas secretadas en la mucosa intestinal, junto con las enzimas que provienen del páncreas y la bilis del hígado, rompen la ingesta y favorecen la absorción de los nutrientes.

La ingesta pasa a través de dos regiones del intestino delgado que son el yeyuno y el ileón, donde también ocurre absorción de la ingesta.

En la porción terminal del ileón existe un saco ciego denominado ciego, el cual se abre desde la unión del ileón con el colon o intestino grueso (Fig. 5.8). En los conejos, los cobayos y los caballos el ciego es lo suficientemente grande para permitir una buena cantidad de fermentación. En otras especies, como los humanos y los perros, el ciego es pequeño y contribuye muy poco a la digestión.

La completa absorción de los nutrientes y el agua se realiza en el intestino grueso o colon, el cual es muy corto y tiene un diámetro mucho mayor que el del intestino delgado. El material que permanece después que el material se ha absorbido consiste de sustancia no digerible o residuos de comida parcialmente digeridos, restos celulares del tracto digestivo y microbios simbiotes, así como productos de excreción. Este material pasa al recto, el cual es un segmento distal del colon de corta longitud que se localiza justo antes del ano, en este punto el excremento pierde una gran cantidad de agua. Las heces son eliminadas del cuerpo a través de un anillo de músculo estriado denominado esfínter anal o ano (en las aves, los reptiles, los anfibios y los peces esta estructura es denominada cloaca).

Durante el proceso la comida se rompe en azúcares simples, aminoácidos, ácidos grasos, vitaminas y minerales. El azúcar absorbida y las grasas proporcionan al animal la energía necesaria para efectuar todas sus funciones corporales. Los aminoácidos proporcionan la materia prima para construir y reparar los tejidos. Los minerales son esenciales en la formación de los huesos y los dientes, siendo necesarios para completar la actividad enzimática. Las vitaminas son necesarias para completar las reacciones químicas que ocurren a través de todo el cuerpo.

El hígado y el páncreas juegan un papel vital en la digestión. El hígado produce un fluido de color verdoso llamado bilis. La bilis se almacena en la vesícula biliar. Cuando es secretada dentro del intestino delgado, las sales biliares ayudan a las enzimas pancreáticas a romper las grasas, así estas pueden ser absorbidas en la corriente sanguínea.

Algunos peces, aves y mamíferos como la rata y el caballo, carecen de vesícula biliar. La mayor parte de estos animales sin

embargo, presentan varios ductos biliares que vacían del hígado directamente hacia el intestino delgado. Además de la producción de bilis, el hígado participa en la producción y ruptura de sustancias químicas utilizadas en el cuerpo. Este es el mayor sitio de almacenamiento de glucógeno, algunas vitaminas y minerales traza.

El páncreas, como una glándula exócrina (de secreción externa), secreta varias enzimas digestivas a través de los conductos pancreáticos que desembocan en el intestino delgado. Como glándula endócrina también libera las hormonas como la insulina y el glucagón en la corriente sanguínea. Estas hormonas son sustancias químicas responsables de la regulación de la glucosa sanguínea.

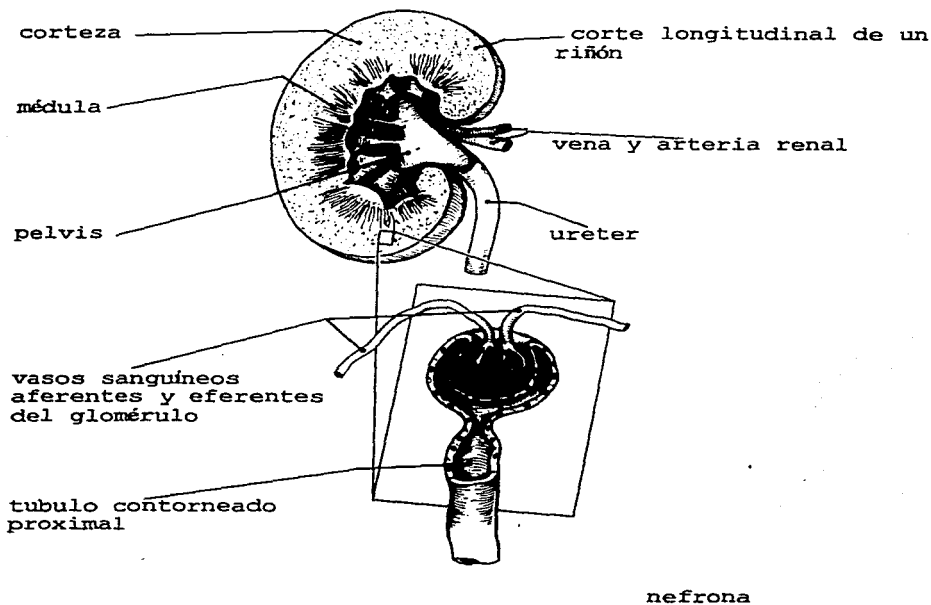
### EL SISTEMA URINARIO

El mantener un ambiente interno constante (homeostasis) en el cuerpo de los animales, depende principalmente del sistema urinario. En los mamíferos el sistema urinario está formado de dos riñones, dos ureteres, una vejiga urinaria y una uretra (Fig. 5.10). Los ureteres son tubos que sirven para transportar la orina, que es el producto terminal de la actividad renal, ésta sustancia es transportada a la vejiga urinaria. La orina es almacenada en la vejiga para su eliminación posterior. La uretra es el tubo que conecta la vejiga con el exterior del cuerpo.

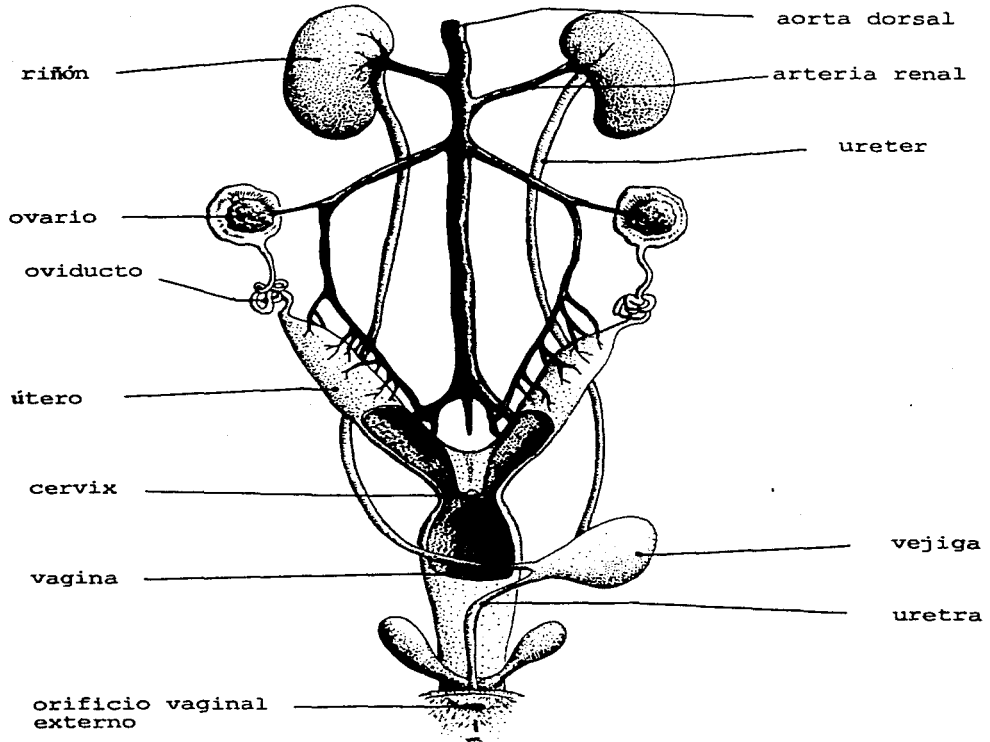
La función de excreción del riñón es el principal medio de control de la composición y volumen de los fluidos corporales. Los riñones producen orina, la cual contiene desechos metabólicos como la urea y la creatinina (Fig. 5.9).

En la mayor parte de los animales, incluyendo a los humanos, perros y gatos, los riñones tienen una forma de frijol. Una excepción a esto es lo que ocurre en los pollos, las vacas y los caballos que presentan un riñón similar a un corazón. Los riñones se localizan dorsalmente en la cavidad abdominal, justo por debajo de las primeras vértebras lumbares y caudales a las costillas. La unidad de funcionamiento del riñón es la nefrona; en cada riñón existen cerca de un millón de nefronas. Cada una esta compuesta de vasos capilares sanguíneos y una serie de tubulos colectores. Cada nefrón es independiente y capaz de formar orina.

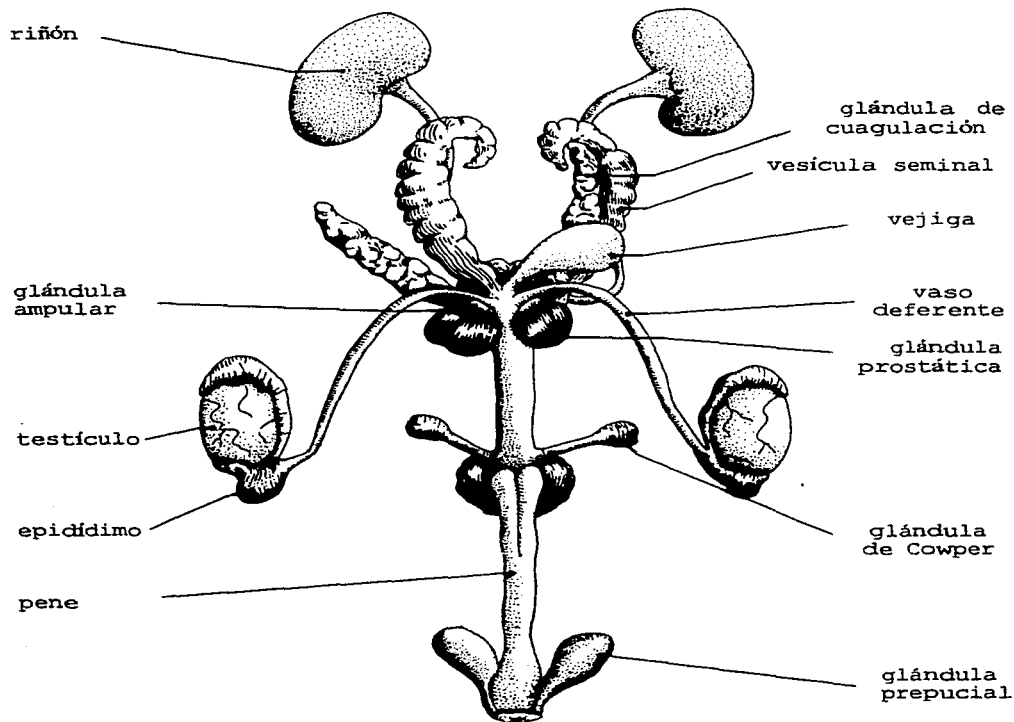
La formación de orina es un proceso complejo. La sangre filtra el plasma dentro de las nefronas a través de los capilares sanguíneos. Conforme el filtrado fluye a través de una serie de tubulos, los desechos o sustancias de desecho permanecen. La mayor parte de todas las sustancias nutritivas importantes, como la glucosa y el 99% del agua se reabsorben o se transportan de los tubulos hacia la corriente sanguínea. Así mismo, aproximadamente 80% de los electrolitos, como el sodio, cloruro y iones de bicarbonato también son reabsorbidos. Las sustancias no deseables son concentradas en el fluido tubular, el cual conformará la orina.



**Figura 5.9** Los riñones filtran los productos de desecho de la circulación sanguínea a través de acumulos microscópicos de capilares denominados glomérulos. Cada glomérulo cuenta con tubulos colectores que llevan los desechos o las sustancias filtradas hasta un tubulo colector, éstos tubulos a su vez llevan los desechos hasta el ureter. Cada glomérulo y sus tubulos colectores forman una nefrona, se calcula que en un riñón cualquiera existen cerca de un millón o más de nefronas.



**Figura 5.10** La anatomía del aparato urogenital de una rata hembra. Varias estructuras anatómicas de los mamíferos son comunes para el tracto urinario y genital. La combinación de estos dos sistemas frecuentemente se denomina como sistema urogenital.



**Figura 5.11.** Como en el caso de la hembra, en el macho el sistema genital y urinario comparten varias estructuras anatómicas.



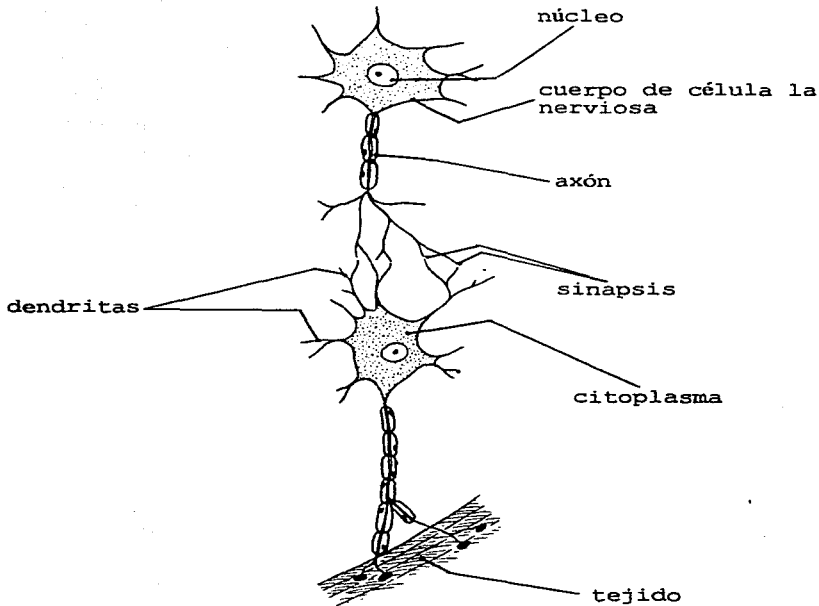
### APARATO REPRODUCTOR

La reproducción sexual se lleva a cabo bajo la acción y control de hormonas y sustancias químicas, la mayor parte de ellas secretadas por la hipófisis y las gónadas. En los mamíferos los órganos reproductores difieren significativamente entre los sexos. En ambos sexos, sin embargo las gónadas tienen la misma función; la producción de gametos o células germinales y la secreción de hormonas sexuales. Los órganos del aparato reproductor de la hembra consisten de dos ovarios y dos oviductos, el útero (ya sea único o con dos cuernos), el cervix, la vagina y la vulva (Fig. 5.10). El desarrollo del tracto reproductor de la hembra necesita la presencia de hormonas estrogénicas. Los ovarios no únicamente secretan estrógenos y progesterona, sino también participan en el desarrollo del óvulo o huevo. Un óvulo es producido por el ovario y transportado a través del oviducto hacia el útero. Normalmente, la fertilización ocurre mientras el óvulo está en tránsito. Cuando la fertilización del óvulo a ocurrido se inicia la implantación en las paredes del útero, donde éste se desarrollará como feto. Durante el parto (al nacimiento), el feto pasa a través del útero hacia la vagina y la vulva.

Los órganos del aparato reproductor del macho son los testículos, los epidídimos, los conductos deferentes, la uretra y las glándulas accesorias (Fig. 5.11). Los testículos secretan hormonas masculinas denominadas andrógenos (el principal andrógeno es la testosterona) y también producen las células masculinas denominadas espermatozoides. En la mayoría de las especies los testículos están dentro de dos bolsas o sacos de piel denominadas escroto. El esperma se mueve a través de los testículos dentro del epidídimo, el cual es una estructura tubular, tanto para su maduración como para su almacenamiento. Los conductos deferentes son ductos que conectan a los epidídimos con la uretra. Como en el caso del aparato urinario, la uretra es el punto final de unión de conexión con el exterior del cuerpo. Debido a esta función compartida, el aparato reproductor y el aparato urinario frecuentemente son denominados como sistema urogenital. Las glándulas anexas al aparato reproductor como la próstata y las vesículas seminales proporcionan los fluidos necesarios para el transporte del espermatozoide durante la eyaculación. Existe una gran variación entre las especies con respecto a la presencia, grado de desarrollo y secreción de estas glándulas anexas.

### EL SISTEMA NERVIOSO

El sistema nervioso vigila el ambiente interno y externo de los animales y libera información vía nerviosa hacia el cerebro. El cerebro evalúa la información y comunica una respuesta cuando es necesario a través de los nervios a la parte apropiada del cuerpo.



**Figura 5.12** El sistema nervioso utiliza sustancias químicas y estímulos eléctricos para transmitir los impulsos de una célula a otra hacia la sinapsis, en donde el axón de una célula casi toca las dendritas de la célula siguiente en una serie de conexiones de neuronas similar a una cadena.

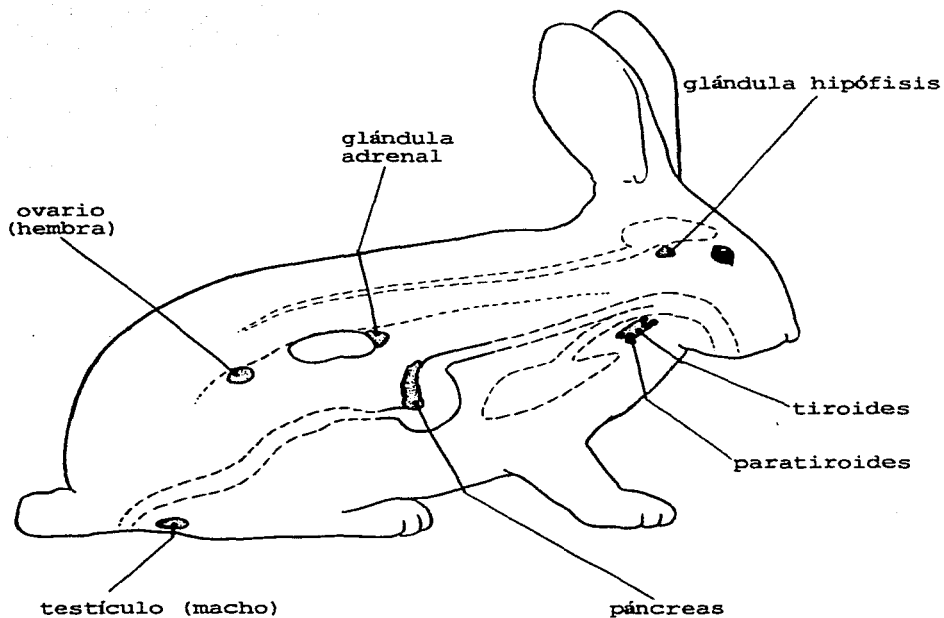
Los cambios ambientales son estímulos que afectan a los cinco sentidos: tacto, audición, vista, gusto y olfacción.

El sistema nervioso está formado de neuronas o células nerviosas. Una neurona consiste de un cuerpo celular, un axón y varias dendritas. Una sinapsis es el pequeño espacio entre el axón de una neurona y la dendrita de otra (fig. 5.12). Un impulso nervioso viaja de un axón de una neurona a una sinapsis, en donde es transferido a la siguiente neurona a través de una estimulación química. El impulso se mueve a lo largo de la fibra nerviosa, de la sinapsis de una neurona a otra. Cada neurona sirve como una función específica: Una neurona motora facilita el movimiento, una neurona sensorial registra sensaciones y una neurona conectora transmite el impulso. Un conjunto de neuronas se rodean por tejido conectivo en una serie de fibras nerviosas unidas todas para formar nervios. El cerebro interpreta y evalúa una gran cantidad de información que afiere a él y dirige la respuesta apropiada para el organismo. Las tres principales partes del cerebro son el cerebro, el cerebelo y el bulbo raquídeo. Junto al cerebro existen cavidades o ventrículos que contienen el líquido espinal. Este líquido es un comunicador indirecto con la médula espinal. El sistema nervioso está formado por dos sistemas, el sistema nervioso central (SNC) y el sistema nervioso periférico (SNP). El SNC incluye el cerebro y la médula espinal. Del cerebro y de la médula espinal salen pares de nervios que se ramifican hacia regiones específicas del cuerpo. A lo largo de estos nervios existen los ganglios o acumulos de neuronas. Estos nervios y ganglios conforman el sistema nervioso periférico. El sistema nervioso controla la actividad voluntaria. El cerebro procesa la información o estímulos recibidos desde las células o porciones receptoras de la célula e inicia una respuesta. La médula espinal proporciona la comunicación entre el sistema nervioso periférico y el cerebro.

Una subdivisión del sistema nervioso periférico es el sistema autónomo, él regula las actividades involuntarias como son la función de las víceras y de otros órganos, por ejemplo, la frecuencia cardiaca, la frecuencia respiratoria o los movimientos digestivos. En otras palabras mantiene el estado de homeostasis; que quiere decir que mantiene una condición estable a pesar de los continuos cambios que ocurren en el organismo.

#### **SISTEMA ENDOCRINO**

El sistema endócrino (secreción interna) esta formado por glándulas que carecen de núcleos las cuales producen uno o más tipos específicos de hormonas. Estas hormonas son secretadas directamente en la corriente sanguínea por difusión a través de las paredes celulares de las glándulas y a través de las finas paredes de los capilares sanguíneos.



**Figura 5.13** En el diagrama se muestra la localización aproximada de las principales glándulas endócrinas en el conejo. Algunos protocolos de investigación requieren que se evalúe rutinariamente y se estudie a varios de estos órganos.

Las hormonas son sustancias químicas que producen respuestas características en otras células del organismo. Ellas regulan funciones como la digestión, el metabolismo, el crecimiento, la pubertad, la reproducción y el envejecimiento. El sistema endócrino primario regula actividades metabólicas y otras funciones vitales del organismo. Consecuentemente, la homeostasis se mantiene bajo su control. Las principales estructuras endócrinas son la glándula hipófisis, la glándula adrenal, la tiroides, la paratiroides, el páncreas y las gónadas (Fig. 5.13).

**Glándula Hipófisis:** Esta es una glándula impar también denominada glándula pituitaria. Es una glándula pequeña localizada en la base del cerebro. Está dividida en dos distintas regiones independientes, el lóbulo anterior y el lóbulo posterior. El lóbulo anterior de la hipófisis produce cuando menos seis diferentes hormonas. Estas hormonas ayudan a regular el crecimiento, metabolismo y funciones de otras glándulas endócrinas. El lóbulo posterior de la hipófisis produce otras hormonas. Estas participan en la reabsorción de agua y en la contracción del músculo liso. Debido a que la glándula hipófisis regula diferentes funciones, en algunas ocasiones fue llamada como "glándula maestra".

**Glándulas Adrenales:** Estas glándulas se presentan en pares y se localizan en proximidad al riñón. Cada glándula adrenal esta formada por una corteza externa y una médula interna. La corteza adrenal secreta hormonas esteroideas, denominadas corticosteroides. Estas sustancias favorecen el metabolismo de proteínas y carbohidratos, regulan el balance electrolítico y ayudan durante la adaptación al estress. La médula adrenal produce las hormonas epinefrina y norepinefrina en respuesta a la estimulación del sistema nervioso autónomo.

**Glándula Tiroides:** Esta es una glándula localizada cerca de la laringe y consiste de dos lóbulos laterales, uno sobre cada lado de la traquea. Dependiendo de la especie, los lóbulos pueden o no estar unidos a través de una estrecha constricción de la glándula. La glándula tiroides produce tiroxina, la cual afecta el metabolismo y también produce una hormona importante en la utilización de calcio.

**Glándulas Paratiroides:** Estas glándulas aparecen en pares y son como nódulos localizados cerca de la tiroides. La hormona que producen es la paratiroides o parathormona, esta es el principal factor de control de la concentración de calcio en la sangre.

**Páncreas:** El páncreas se localiza cerca de la terminación craneal del duodeno. Además de sus funciones digestivas, también secreta las hormonas insulina y glucagón a través de los acumulos de células denominadas islotes pancreáticos (de Langerhans). Estas dos hormonas tienen efectos recíprocos; la insulina reduce los niveles de glucosa en la sangre, facilitando a la glucosa la

entrada a las células, el glucagón eleva los niveles de glucosa.

En la enfermedad denominada diabetes mellitus existe tanto una insuficiencia de insulina como una inestabilidad para utilizarla.

**Gónadas:** Estas son las glándulas sexuales. Están constituidas por un par de ovarios en la hembra o testículos en el macho. Las hormonas de las gónadas ayudan a determinar las características físicas secundarias y a regular la conducta sexual y reproductiva.

79  
**CAPITULO SEIS**

**ALIMENTOS Y ALIMENTACION**

Los nutrientes que contiene la comida y el agua proporcionan a los animales la energía y materias primas para su crecimiento, mantenimiento y reparación de tejido corporal. La nutrición es el estudio de los alimentos y de la alimentación y requerimientos de agua de los animales y el estudio de los procesos por los cuales ellos ingieren la comida y usan los nutrientes.

**DIGESTION**

La digestión es el procesamiento de los alimentos ingeridos en la dieta y digeridos enzimáticamente en compuestos bioquímicos absorbibles a través de las paredes intestinales y hacia la corriente sanguínea. El metabolismo es la serie de reacciones químicas celulares que degradan los compuestos bioquímicos en moléculas simples, liberando la energía y produciendo moléculas para la síntesis de moléculas más complejas como son las proteínas.

**LOS NUTRIENTES**

El agua, las proteínas, las grasas, los carbohidratos, las vitaminas y los minerales son las sustancias del alimento necesarias para mantener la vida.

Cada nutriente tiene un papel específico en los diferentes procesos corporales. Por ejemplo, los carbohidratos, las proteínas y las grasas todas ellas proporcionan energía en forma de calorías (energía medida en unidades de calor). Al igual que la maquinaria, los organismos vivos requieren de una fuente de energía para funcionar.

Además los animales requieren una cantidad de nutrientes esenciales y no esenciales. Los nutrientes esenciales son aquellos que un animal no puede producir en suficiente cantidad para mantener una buena salud. Los nutrientes esenciales deben de proporcionarse en la dieta. Un nutriente en particular puede ser esencial para algunas especies pero no para otras. La vitamina C es este tipo de nutrientes. La vitamina C debe estar incluida en dietas de cobayos, primates no humanos y humanos. Sin embargo, no es esencial para muchas otras especies, las cuales producen esta sustancia como parte normal de un metabolismo. Algunos nutrientes se pueden requerir en cantidades muy pequeñas, por ejemplo, en partes por millón (PPM), o en miligramos por kilogramo (mg/kg). Las vitaminas y la mayor parte de los minerales son ejemplo de este tipo de nutrientes.

**Agua**

El agua es el más importante de los nutrientes. Un animal puede perder todas sus reservas de carbohidratos y hasta el 50% de la

ESTE LIBRO NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

proteína corporal y aún sobrevivir. Sin embargo sin agua, este puede sobrevivir muy pocos días.

El agua es el medio en el cual se realizan todas las reacciones metabólicas y la mayor parte de los procesos corporales. También sirve como un vehículo para el transporte y distribución de sustancias a través del cuerpo. Una pérdida de aproximadamente 10-20% del agua corporal ocasiona la muerte.

### **Proteína**

Las proteínas son moléculas complejas. Están formadas por largas cadenas de aminoácidos que se disponen en una gran variedad de secuencias. Las proteínas son los materiales básicos de construcción de todos los tejidos como el músculo, cartilago, la piel, órganos, vasos sanguíneos, etc. Las enzimas, algunas hormonas y moléculas transportadoras, como la hemoglobina están constituidas por proteínas. Si un animal tiene deficiencia en ingesta calórica su propia proteína corporal (músculos y los tejidos) serán metabolizados para proporcionar calorías. Las proteínas, sin embargo no son una fuente eficiente de energía y su continuo uso como fuente energética puede matar al animal.

### **Grasas**

Los lípidos son componentes estructurales importantes de las membranas celulares y las grasas son unos de los lípidos más conocidos. Las grasas contienen más del doble de calorías por unidad de peso como carbohidratos y proteínas. Una de las funciones primarias de la grasa es suministrar y almacenar energía. Las grasas también son importantes en la síntesis de algunas hormonas y otros componentes corporales. Las grasas proporcionan aislamiento térmico a los animales, protección y amortiguamiento a algunos órganos y son transportadoras de las vitaminas liposolubles. Las grasas se degradan en el cuerpo en ácidos grasos y glicerol.

### **Carbohidratos**

Los carbohidratos son compuestos orgánicos formados por oxígeno, hidrógeno y carbono. Los azúcares simples, como la glucosa son la forma más elemental de carbohidratos. La sucrosa (azúcar de mesa) y la lactosa (azúcar de la leche) son carbohidratos complejos compuestos de dos moléculas de azúcares simples. El almidón y el glicógeno (almidón animal) son azúcares complejos formados por un gran número de azúcares unidos por puentes químicos que son fácilmente separables por las enzimas de los mamíferos. Ambos tipos de carbohidratos son fácilmente utilizados por el cuerpo como una fuente de energía.

Los carbohidratos son normalmente la fuente de energía en el metabolismo corporal. El exceso de carbohidratos se almacena en un principio como glicógeno en el hígado y en el tejido muscular. Cuando estas áreas de almacenamiento están saturadas, los carbohidratos restantes son convertidos a grasas corporales.



## **Vitaminas**

Las vitaminas son compuestos orgánicos que son necesarios únicamente en pequeñas cantidades para mantener la salud.

Los tejidos no grasos de plantas y animales contienen vitaminas, hidrosolubles. El ácido ascórbico (vitamina C) y las vitaminas del complejo B (tiamina, riboflavina, niacina, B6, B12, ácido fólico y biotina) son hidrosolubles. Las vitaminas hidrosolubles deben de proporcionarse diariamente, debido a que no se almacenan fácilmente en el cuerpo. Las vitaminas hidrosolubles trabajan en conjunto con las enzimas y participan en una gran cantidad de reacciones metabólicas.

Las vitaminas liposolubles, A, D, E y K se encuentran fácilmente en la parte grasosa de las plantas y los animales. Los animales dependen de la digestión y el metabolismo de las grasas para suministrar sus vitaminas liposolubles. A diferencia de las vitaminas hidrosolubles, las vitaminas liposolubles se almacenan en exceso en la grasa y no se excretan. Un exceso de vitaminas liposolubles en la dieta pueden producir enfermedades. La carencia de alguna vitamina en la dieta también puede ocasionar problemas. El escorbuto causado por la deficiencia de vitamina C es un ejemplo de este tipo de enfermedad.

## **Minerales**

Al menos 21 minerales o elementos inorgánicos son necesarios para mantener a las especies comunes de laboratorio. Los elementos minerales como el calcio, fósforo y sodio son utilizados como componentes estructurales y como electrolitos en el establecimiento del balance de la sal del organismo.

Algunos minerales requieren únicamente cantidades traza. Estos son utilizados en una gran cantidad de procesos corporales. El papel más familiar de los minerales es el del hierro y el del oxígeno, los cuales se acarrean en la hemoglobina y se encuentran en los eritrocitos.

Una deficiencia de minerales en la dieta puede causar enfermedad nutricional en los animales de laboratorio. Los técnicos deben también saber que el suministro en cantidades excesivas de minerales y vitaminas es tóxico para los animales.

## **ENERGIA METABOLIZABLE**

La mayor parte de los animales se alimentan para satisfacer sus requerimientos de energía, las dietas de los animales están formuladas sobre los requerimientos de energía y consumo esperado.

En un sistema biológico la energía es necesaria para mantener los procesos vitales como la respiración, metabolismo celular, movimiento, digestión, transmisión de impulsos nerviosos, división celular e incluso el crecimiento. La energía se mide en unidades llamadas calorías. Una caloría es la cantidad necesaria para elevar la temperatura de un gramo de agua pura de 14.5°C a 15.5°C. Una caloría nutricional es una kilocaloría (Kcal) o 1000 calorías.

La energía del alimento se mide incinerando una muestra de alimento hasta cenizas en un aparato denominado bomba calorimétrica. El alimento varía considerablemente en su contenido de calorías. Los carbohidratos, por ejemplo contienen 4.1 Kcal/gram., las proteínas contienen 5.6 Kcal/gram. y las grasas contienen 9.4 Kcal/gram.

#### **EVALUACION DEL ALIMENTO**

Para desarrollar una fórmula apropiada de alimento para animales uno debe de analizar y evaluar su contenido.

El análisis proximal es la técnica básica utilizada para análisis de alimento. Este consiste de un número de pruebas analíticas las cuales proporcionan datos sobre la cantidad de proteína cruda, grasa, fibra cruda, carbohidratos solubles, humedad y cenizas que contiene una muestra de alimento.

El total de Nutrientes Digestibles (TND) es un valor estimado de la digestibilidad de cada nutriente en una muestra de alimento multiplicado por los valores del análisis proximal. La información que resulta es un estimativo mucho más exacto del contenido de energía de la dieta disponible en el momento para el animal. Por ejemplo, una suela de zapato vieja puede tener excelente cantidad de proteína si únicamente se evalúa por el análisis proximal y no por su contenido de TND.

#### **SELECCION DEL ALIMENTO**

Existen dietas comerciales para la mayor parte de las especies animales de laboratorio.

##### **Dietas Balanceadas**

Las dietas disponibles comercialmente contienen en forma balanceada todos los nutrientes requeridos para el mantenimiento de las especies que mencionan. Si los animales de laboratorio consumen la cantidad apropiada de la dieta comercial para su especie, estas deben de recibir todos sus requerimientos nutricionales.

Los suplementos que se suministren a los animales de laboratorio contribuyen a su ingesta calórica diaria. Por lo tanto su uso puede ocasionar que los animales consuman menos cantidad de su dieta balanceada. Debido a que estos suplementos alimenticios usualmente no están balanceados nutricionalmente, su uso puede interferir con la satisfacción de los requerimientos del animal. Ocasionalmente se necesita dar algún premio, ya sea como medio de suministro de medicamento o como una recompensa de conducta, o para sacar del aburrimiento a los animales. En estos casos el uso de estos suplementos debe ser mantenido en un mínimo o debe evaluarse su contenido nutricional con respecto del valor de la dieta.

Las etiquetas del alimento deben de revisarse para asegurarse que la dieta está completa o balanceada. Ocasionalmente algunos alimentos no son dietas completas y son por lo tanto inaceptables como fuente única de nutrientes.

### Formas Disponibles del Alimento

**Dietas Molidas:** Estas generalmente se ofrecen como polvos o granulado (Fig. 6.1a). Las dietas molidas comúnmente se utilizan para pollos, pero también se pueden utilizar para algunos roedores. Tienen un alto contenido de polvo, lo cual puede ocasionar problemas respiratorios en algunas especies. Debido a su gran superficie, los alimentos molidos tienen más exposición al aire que otras formas de alimento. Así mismo, estos alimentos se desperdician más que en otras presentaciones.

**Alimentos Peleteizados:** Se elaboran primero moliendo el alimento y después moldeándolo en una gran variedad de formas y tamaños (Fig, 6.1b, 6.1a). Los alimentos con un alto contenido en grasa no son usualmente peleteados, ya que no se mantienen juntos. La calidad del pellet puede variar considerablemente. Una abundancia de polvos finos acumulados en la bolsa del alimento significa que el alimento tiene una calidad cuestionable y debe reportarse al supervisor del bioterio inmediatamente. Los alimentos peleteados comúnmente se suministran a conejos, cobayos, roedores y animales de granja.

**Alimentos Extruidos:** Se producen pasando el alimento a través de moldes estrechos por presión y calor a altas temperaturas. El alimento de gatos, de primates y de perros comúnmente se elabora bajo este proceso. El calor ayuda a reducir el contenido de bacterias en el alimento y forma un complejo protéico-carbohidratos que hacen más digestible el alimento, se considera que se mejora la conversión alimenticia en cuando menos un 10%.

**Alimentos Semihumedos:** Usualmente estos alimentos se encuentran como dietas para mascotas, los alimentos semihumedos están disponibles para perros y gatos. Su contenido en calorías es generalmente alto, lo cual los hace inapropiados para animales mantenidos en jaulas o perreras. La naturaleza suave de la dieta tampoco permite o promueve la limpieza de los dientes o la estimulación de las encías que proporcionan las dietas secas, también pueden contribuir a problemas dentales en estudios a largo plazo.

**Alimentos Enlatados:** Estos están disponibles principalmente para perros y gatos, estos animales frecuentemente muestran una preferencia por un tipo de alimento. Sin embargo, los alimentos enlatados son bastante caros y no se almacenan bien una vez abiertos.

**Paja o Heno:** Frecuentemente estos se dan a ruminantes, así como a conejos y cobayos. Los henos deben de ser de buena calidad y no estar húmedos o polvosos. Incluso los henos de mejor calidad están contaminados con organismos que pueden afectar la salud de los animales. Las pajas sueltas son difíciles de almacenar, pero comercialmente existen cubos o pacas de heno que son una

alternativa viable. Los ruminantes deben alimentarse con paja en comederos elevados y no en el piso donde la contaminación es muy fácil que ocurra.

### **Dietas Comerciales**

**Dietas Estándar:** Son dietas formuladas con diferentes presentaciones con datos sobre el contenido de proteína, fibra, grasa u otros nutrientes. La elección se basa en las necesidades de la cepa o especie, la existencia de una condición particular como puede ser gestación o lactancia y los requerimientos de investigación del experimentador. Los ingredientes y el análisis de garantía generalmente se encuentran en la etiqueta del empaque.

**Alimentos certificados:** Son términos generales similares a otros alimentos, con la excepción de que el fabricante certifica que ha medido y analizado los nutrientes, así como los contaminantes ya sean pesticidas o metales pesados. Generalmente se certifica que los contaminantes están por debajo de un nivel en particular.

**Alimentos Autoclaveables:** Estos alimentos están formulados para resistir los efectos del autoclaveado el cual destruye porciones importantes de nutrientes. A estas dietas se les agrega una cantidad suplementaria de nutrientes para que después del proceso de autoclaveado la dieta permanezca balanceada.

**Dietas Purificadas:** Estas están hechas de ingredientes purificados como son almidón, glucosa, sucrosa y caseína (proteína de la leche). Las dietas purificadas usualmente se utilizan en estudios nutricionales y otros estudios que requieren el conocimiento preciso de los componentes individuales de la dieta.

### **ASPECTOS PRACTICOS DE ALIMENTACION**

El técnico debe estar consciente del importante papel que desempeña al ser responsable de la alimentación y suministro de agua de los animales. Si bien el abrir una bolsa y meter el cucharón dentro del alimentador parece una tarea sencilla, el trabajo del técnico de laboratorio es mucho más complejo.

El más esencial de todos los nutrientes es el agua. El agua debe de estar limpia, fresca y disponible en todo momento para los animales (ad libitum). Es posible que surjan interrupciones en el suministro de agua. Una pipeta o tubo puede estar colocado en una posición inadecuada o puede estar tapado evitando que el animal tenga acceso al agua. Un técnico en animales de laboratorio bien entrenado rápidamente aprende a identificar estos problemas y corregirlos antes de que el animal muestre alguna enfermedad severa. El suministro de medicamentos o vitamina C al agua de bebida puede causar a los animales un decremento en su ingesta de agua debido al sabor de este aditivo.

La mayor parte de los comederos están diseñados para proporcionar un tipo particular de alimento y deben de ser seleccionados sobre la base de la especie animal y tipo de dieta.

Cuando se hace la selección, debe considerarse la accesibilidad a la limpieza y la prevención de la contaminación. Por ejemplo, los alimentadores en forma de "J" pueden taparse en el piso, haciendo difícil para el animal el obtener el alimento. Un técnico en animales de laboratorio atento al monitoreo de los comederos puede percatarse de esto y corregirlo cuando ocurra.

En muchas ocasiones el cambio de la dieta es necesario. Por ejemplo, un cambio puede ser necesario para un modelo experimental o simplemente porque tenemos un proveedor diferente. Los animales son sensibles a estos cambios de dieta y frecuentemente dejan de comer o presentan diarrea cuando un cambio súbito se presenta. Para evitar este estrés innecesario al animal, los cambios en la dieta deben de realizarse gradualmente en un período de unos cuantos días.

Esto puede realizarse mezclando una pequeña cantidad del alimento nuevo con el alimento viejo en el primer día y gradualmente hasta terminar dándole toda la ración del alimento nuevo.

El crecimiento y la reproducción requieren atención especial en cuanto a sus necesidades nutricionales. Las necesidades de los animales en crecimiento y gestantes pueden cubrirse proporcionándoles alimento adicional. Sin embargo algunas veces, los requerimientos individuales de una dieta especial la cual es alta en proteínas y calorías puede ser necesaria para cubrir las necesidades de crecimiento y de lactación. Estos son los dos estados fisiológicos más demandantes en los animales. Los animales lactantes de la mayor parte de los roedores comienzan a alimentarse a los 10 o 14 días después del nacimiento. Los gatos y los perros, por otro lado no empiezan a comer alimento sólido hasta que tienen tres o cuatro semanas de edad. Las madres alimentando a sus crías requieren alimento extra durante este período.

Los técnicos deben de estar preparados para identificar los signos comunes de la desnutrición y deshidratación. Los animales aparecen hiperactivos y molestos cuando transcurren las primeras 24 hrs. de falta de agua. La cubierta del pelo de estos animales empieza a parecer seca, desalineada, la piel pierde su capacidad de plegarse y las membranas mucosas de la nariz, la boca y el ano aparentan resequead y son de un color rojo. En un animal deshidratado la ingesta de comida seca decrece drásticamente y por lo tanto la producción de orina y excremento. La deshidratación puede ser una complicación de una enfermedad o el resultado de una falla en el sistema de provisionamiento de agua, ya sea éste automático o manual.

La desnutrición puede desarrollarse durante un tiempo prolongado, como ocurre en las enfermedades nutricionales. Un animal desnutrido muestra una significante pérdida de peso y una debilitación general. También muestra una prominencia inusual de estructuras óseas. La desnutrición usualmente no ocurre en los animales de laboratorio excepto como una complicación de enfermedad en la cual interfiere con la ingesta normal de comida o su

utilización.

La supervisión de la ingesta de comida de todos los animales de laboratorio es una práctica esencial del buen cuidado de los animales.

#### MANEJO DEL ALIMENTO Y DEL LUGAR DE ALMACENAMIENTO

El manejo apropiado del alimento es un aspecto importante de las actividades que realiza el técnico. Es vital para la salud y para la nutrición de los animales y tiene un efecto directo sobre la economía y administración del bioterio.

El alimento usualmente se almacena por largos períodos de tiempo en un cuarto que se localiza fuera o lejos de los cuartos de los animales. El cuarto de almacenamiento o bodega debe presentar un ambiente frío, seco, bien ventilado y nunca expuesto a la luz directa del sol.

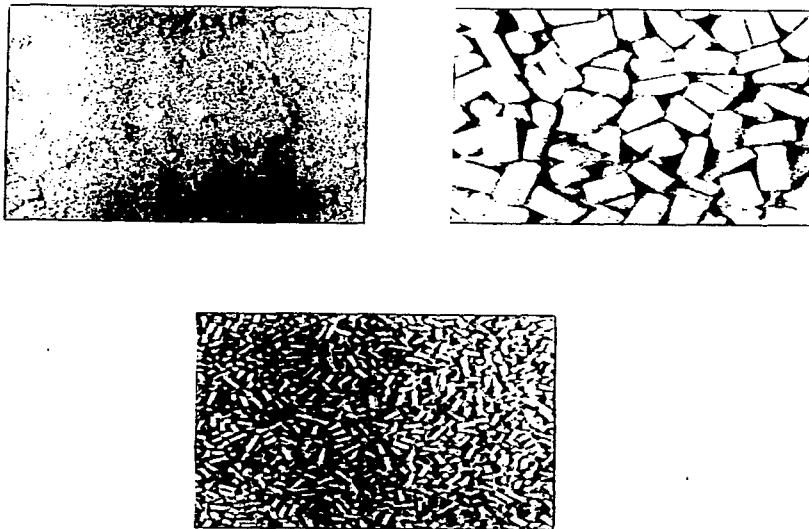
El alimento debe ser almacenado sobre plataformas o repisas colocadas sobre el piso para que se permita la limpieza y la circulación del aire. Las bolsas abiertas deben de mantenerse en depósitos de plástico con tapas que se fijen y cierren perfectamente. Los recipientes deben de ser cambiados y limpiados antes de que se agregue nuevo alimento a cada uno de ellos. Debe existir además un control efectivo contra plagas u otros insectos nocivos.

La mayor parte de los alimentos tienen un tiempo de vida o fecha de caducidad después de la cual se inicia el proceso de degeneración del producto. Debido a que la tendencia de la vitamina C para deteriorarse ocurre alrededor de 90 días después de su fabricación, los alimentos para cobayos y primates no humanos puede almacenarse únicamente por tres meses después de que fueron producidos. Otro tipo de alimentos comerciales secos pueden almacenarse hasta 6 meses. El almacenamiento de los alimentos sin ninguna de las condiciones óptimas reducen grandemente su tiempo de vida o utilidad. El alimento que se mantiene en latas cerradas puede almacenarse hasta por dos años. Los fabricantes de alimento generalmente marcan cada una de las bolsas con la fecha que fue fabricado el alimento. El técnico en animales de laboratorio debe revisar las fechas anotadas en las bolsas para asegurarse que el alimento que está proporcionando a los animales es fresco, el procedimiento en muchos bioterios es marcar cada bolsa con la fecha en la cual se debe utilizar. Esto elimina las preguntas acerca de las fechas de expiración del alimento. Siempre deben de utilizarse primero las bolsas viejas antes de las que acaban de llegar recientemente.

Deben de revisarse a la fecha de su arribo las bolsas de alimento para asegurarse de que estén limpias, secas, sin teñir y libres de probables alteraciones. Una bolsa con cualquiera de estos defectos debe de ser rechazada debido a la posibilidad de contaminación.

Las dietas o alimentos especiales contienen drogas o sustancias químicas y por lo tanto deben de almacenarse en un cuarto separado

libre del tránsito regular o del alimento que se utiliza regularmente. El almacén para el alimento de rutina debe de utilizarse únicamente para alimento y se cuenta con material de cama que ha sido desinfectado o que tiene un estricto control de calidad, podría también mantenerse en el mismo lugar. Los detergentes u otras sustancias químicas las cuales pudieran contaminar el material de cama y el alimento, deben almacenarse en forma separada.



**Figura 6.1** Los alimentos preparados comercialmente están disponibles en polvo (a), pellets largos comúnmente usados para roedores (b) y pellets pequeños para conejos y cobayos (c). El tamaño y consistencia del alimento depende del tamaño y estructura de los dientes del animal y del diseño experimental o tipos de comederos disponibles.



## UNIDAD 3

### REPRODUCCION Y CRUZAMIENTOS

Esta unidad se enfoca en los cuidados reproductivos y los cruzamientos de las especies animales de laboratorio más comúnmente utilizados en la investigación. Los técnicos en animales de laboratorio deben también ser cuidadosos en revisar los procedimientos normales que existen en su propio bioterio.

La tabla 14.1, la cual aparece al final del último capítulo de esta unidad, contiene datos fisiológicos y reproductivos de ratones, ratas, hamsters, cobayos, conejos, gatos, perros y primates no humanos. Otros datos fisiológicos así como datos sobre el medio ambiente y los requerimientos de espacio para cada una de estas especies se pueden encontrar en el capítulo quince de esta sección así como en la siguiente sección de este manual.

## CAPITULO SIETE

### HERENCIA Y REPRODUCCION

La herencia es la causa de la apariencia física de un animal. También tiene un efecto directo sobre la fisiología y la conducta de éstos. Las necesidades ambientales, como el tipo y la cantidad de alimento, la cantidad de agua, el tipo de alojamiento, la temperatura y la humedad óptimas son determinadas por factores hereditarios. La comprensión de las diferencias hereditarias entre las especies utilizadas como animales de laboratorio es crítica para mantener los aspectos reproductivos de la colonia y para los procedimientos técnicos utilizados en la experimentación animal.

#### GENES Y CROMOSOMAS

Uno de los primeros descubrimientos en la ciencia de la herencia, fue el de que las características físicas de los organismos vivos se pasan de una generación a la otra a partir de los padres hacia su descendencia, a través de unidades de herencia conocidas como genes. La apariencia es por lo tanto una característica hereditaria, como lo puede ser el pelaje, el color de los ojos, el número de dedos, o la longitud del intestino.

Los genes se localizan en los cromosomas y están constituidos de una sustancia química denominada ácido desoxiribonucleico (DNA). Los cromosomas son estructuras que aparecen en pares y que se encuentran en el núcleo de las células. El número de cromosomas pares difiere en varias especies, pero todos los miembros normales de una especie tienen el mismo número de pares.

El único tipo de células en el cual los cromosomas no aparecen en pares son los óvulos y los espermatozoides, éstas células

contienen cromosomas sin pareja. Cuando el óvulo de las hembras es fertilizado por el espermatozoide del macho, la unión de estas células resulta en un cigoto o huevo fertilizado, de esta forma los cromosomas encuentran su pareja a partir de las unidades sencillas que recibieron de cada uno de sus progenitores. De esta forma la mitad de los genes de los padres son pasados usualmente intactos a la siguiente generación.

La expresión de un gen (las características físicas actuales) es el resultado de la interacción de los pares de genes divididos de los padres. Los genes de cada par de cromosomas pueden expresarse fácilmente (dominantes) o expresarse en raras ocasiones (recesivo). Esto significa que si un animal recibe un gen recesivo para pelaje café de uno de los progenitores y un gen dominante para pelaje negro de otro de los progenitores, el animal expresará el gen de color negro y por lo tanto tendrá color negro. Sin embargo el seguirá portando o llevando el gen para el color café, por lo que él puede pasar este gen a su descendencia. El gen de color café nunca se expresará a menos que encuentre otro gen de color café en una generación futura. Esto pudiera permanecer presente a través de muchas generaciones como un gen recesivo y únicamente se manifestará muchos años después cuando dos animales negros portadores del gen café pasen el gen café a su descendencia. Un ratón café debe por lo tanto tener dos genes para color café, mientras que un ratón negro puede tener dos genes para negro o un gen para negro y uno para café.

Ocasionalmente los genes pueden cambiar o mutar cuando ellos pasan de sus progenitores a las crías. Si bien éstas mutaciones pueden ocurrir espontáneamente, también son favorecidas por factores químicos o físicos ambientales. Las mutaciones pueden ser tanto benéficas como negativas. Las características adquiridas por un progenitor, a través de una lesión o un accidente, no forman parte del material genético y por lo tanto no pasan a las crías. Únicamente aquellos cambios que afectan el material genético en los cromosomas son heredados en futuras generaciones. Es importante que el técnico de laboratorio considere dentro de sus responsabilidades el deber de notificar cualquier presencia de animales poco comunes. Como aquellos animales que pudieran tener una nueva mutación y posiblemente un uso como modelo animal que podría ayudar a los científicos a comprender ciertas enfermedades o fenómenos biológicos. Los técnicos de bioterio deben aprender tanto como sea posible acerca de las características particulares y de las necesidades específicas de los animales que se encuentran bajo su cuidado.

## REPRODUCCION

Los primeros pasos en el complejo proceso de la reproducción sexual, son la producción de espermatozoides en los testículos de los machos y de los huevos u ovocitos en los ovarios de la hembra.

La localización y la forma en la cual los espermatozoides y los huevos se unen para la fertilización depende de cada especie. En la mayoría de los mamíferos la fertilización ocurre en el tracto reproductivo de la hembra. En otro tipo de animales, por ejemplo, en los anfibios, esto ocurre fuera del cuerpo. El sitio para el desarrollo del huevo fertilizado o cigoto también varía con la especie. En la mayor parte de los mamíferos el cigoto se implanta y crece en las paredes del útero de la hembra. En las aves y reptiles, el desarrollo embrionario usualmente se presenta fuera del cuerpo pero dentro de un huevo. La etapa embrionaria es el tiempo durante el desarrollo temprano en el cual no es reconocible como un miembro de su especie.

El tiempo requerido para que un cigoto se desarrolle en feto (una cría que no ha nacido) y ocurra el nacimiento es denominado periodo de gestación. La duración de este periodo varía con las especies. El periodo de gestación es importante en el mantenimiento de las colonias de los animales de laboratorio. Los periodos de gestación que se presentan en esta unidad se muestran en el texto para cada especie y se resumen en la tabla 14.1. La terminación normal del periodo de gestación es denominada nacimiento o parto.

Los machos de la mayor parte de las especies producen continuamente espermatozoides y son capaces de montar a la hembra en cualquier momento después de que han alcanzado la madurez sexual. Las hembras, por otro lado, nacen con el número total de óvulos que tendrán. Algunos huevos continúan su desarrollo durante los ciclos estrales que los preparan para la fertilización. Durante una fase particular del ciclo estral denominada estro o calor, la hembra permite la monta. La ovulación, que es la liberación de los huevos del ovario, usualmente ocurre en este momento. Las células de las paredes de la vagina de la hembra cambian conforme el cuerpo pasa a través de varias fases del ciclo. Para asegurar que la monta ocurra en el momento óptimo, es posible tomar muestras de las células de la vagina y examinarlas al microscopio para determinar la fase del ciclo estral.

## ESQUEMAS DE CRUZAMIENTO

Hay una gran variedad de esquemas de cruzamiento que determinan que tan semejantes o diferentes serán las crías de sus padres. Los esquemas seleccionados dependen de las características del animal a utilizarse y de los requerimientos del protocolo de investigación.

### Cruzamiento Consanguineo ó Estrecho

El cruzamiento estrecho es un esquema utilizado para producir animales genéticamente similares que son utilizados por algún protocolo en particular. Los animales que resultan de este proceso

comparten la mayor parte de las características y son identificados como miembros de una cepa específica. Las cepas son consideradas consanguíneas después de un mínimo de 20 generaciones de cruzamientos hermano con hermano o de padres con sus crías. Los roedores son las especies de laboratorio más frecuentemente utilizadas para fines consanguíneos. Ejemplos de cepas consanguíneas entre los ratones son las cepas C57BL, DBA/2, C3H y BALB/C.

Una monta accidental con un animal no relacionado o un animal de una cepa diferente contamina la línea consanguínea y destruye su utilidad. Esta es la razón por la cual los animales que se escapan no deben de regresarse a su casa original a menos que sea posible definitivamente identificarlos con toda certeza. Incluso en estos casos se les debe regresar únicamente si es un macho o si es una hembra que con certeza se sabe que no ha sido expuesta a un macho fuera de su caja. Cualquier diferencia en el color u otras características entre los animales consanguíneos debe de reportarse inmediatamente, dado que puede ser signo de contaminación genética o deberse a una mutación. Existen 2 variaciones de cruzamiento consanguíneo: Línea estrecha (hermano x hermana ó padre x hija) y Línea única (tíos x sobrinos ó x primos).

#### **Cruzamiento No Consanguíneo ó Abierto**

El cruzamiento abierto algunas veces denominado aleatorio es un sistema o un esquema de cruzamientos frecuentemente utilizados en colonias para roedores. Estas colonias de animales no consanguíneos también son denominadas poblaciones exogámicas. Los cruzamientos abiertos deben ser cuidadosamente planeados y deben de realizarse únicamente con animales que no están relacionados genéticamente pero que provienen de la misma población exogámica. De esta manera resultan animales que son diferentes genéticamente entre sí. Este sistema de cruzamiento usualmente produce animales más fuertes en mucho mejor medida que los producidos por el cruzamiento estrecho. Así mismo resultan camadas más grandes. Algunas de las razas de ratones típicos son CF1, ICR y la raza Suiza.

#### **Otros Sistemas de Cruzamiento**

Los sistemas de cruzamiento para otros animales, como los perros, gatos o cerdos usualmente involucran el cruzamiento con animales que muestran características individuales similares que pueden ser deseables para preservar en las crías. Cuando estos animales comparten uno o pocos ancestros comunes pero distantes como es el caso de los tatarabuelos, el esquema de cruzamiento se denomina cruzamiento en línea interna. Otro sistema de cruzamiento es el entrecruzamiento, el cual involucra el cruzamiento de animales de diferentes razas; por ejemplo, la cruce de perro Pastor Alemán con un perro Cobrador Labrador. Otro sistema es el llamado Robertson que se explica ampliamente en el capítulo 6 secc. II.

#### **NOMENCLATURA DE CEPAS Y DE POBLACIONES EXOGÁMICAS**

En 1952 se introdujo un sistema estandarizado para nombrar a las cepas consanguíneas y a las poblaciones exogámicas de roedores, el cual actualmente tiene una aceptación universal. Antes de que

ocurriera esto una cepa o una población exogámica podía denominarse con una infinidad de nombres. Esto hacía difícil para los científicos repetir estudios utilizando el mismo tipo de roedores y el acumular información retrospectiva. Para la mayor parte de las especies, sin embargo, aún existen nomenclaturas confusas. Sin importar la especie es importante que todos los animales siempre sean referidos por su nombre correcto o por la versión aceptada y es imperativo que se lleven registros exactos en cada caja donde se mantiene a los animales.

La designación correcta usualmente se puede obtener del proveedor de los animales como parte de la información que acompaña al pedido.

#### **FORMAS DE APAREAMIENTO**

Una vez que se ha determinado el perfil genético del animal que se requiere para un proyecto en particular, uno puede seleccionar el sistema de apareamiento apropiado. Para algunas especies existe más de un sistema de apareamiento. La selección del sistema depende de las consideraciones de manejo y de uso del animal. Existen dos tipos de sistemas de apareamiento: Permanentes y temporales

##### **Sistemas de Apareamiento Permanente**

###### **Apareamiento Monogámico**

En un apareamiento monogámico un macho y una hembra son seleccionados para formar una pareja reproductiva y se les mantiene juntos durante toda su vida reproductiva.

Este sistema simplifica el mantenimiento de registros y una vez que el apareamiento se ha establecido adecuadamente, permite por sí solo mantener colonias consanguíneas o colonias no consanguíneas de roedores.

###### **Apareamiento Poligámico.**

Este es un sistema en el cual un macho es alojado con dos o más hembras permanentemente. De esta manera se produce un gran número de crías a partir de un número reducido de reproductores. Es el sistema más económico de producción de animales de laboratorio. Sin embargo es difícil mantener registros exactos cuando se utiliza este sistema debido a que las hembras generalmente comparten las responsabilidades del cuidado de las crías. En este sistema es incierto o con poca seguridad se sabe cual hembra fue la que dió nacimiento y a cual debe de asignarse el parto. Este sistema puede ser utilizado para el mantenimiento de colonias de roedores únicamente cuando no es crítico conocer cual hembra es la madre. Las cajas deben de ser lo suficientemente grandes para permitir el alojamiento apropiado de los adultos y de las crías hasta que son destetados.

##### **Sistemas de Apareamiento Temporal**

###### **Apareamiento en Harem**

En éste sistema el macho se encuentra con dos o más hembras pero estas son retiradas cuando se detecta la gestación o poco antes del parto. Con este sistema es fácil realizar registros exactos, sin embargo no es posible aprovechar el estro postparto.

### **Alojamientos Separados o Monta Controlada**

En este sistema el macho o la hembra se mantienen en alojamientos separados y solo se juntan para el propósito de aparearse. Este sistema reduce el número de animales reproductores y permite llevar un exacto control de los registros; sin embargo, se requiere mucho esfuerzo para poder llevar este sistema. Si los machos se sabe que matan a las crías o si los machos y las hembras son agresivos entre sí, este es el sistema de elección. Los conejos y los hámsters generalmente se alojan separados por estas razones y únicamente se les reúne cuando se van a reproducir.

### **Otros Aspectos de la Reproducción**

Cuando se seleccionan los reproductores debe considerarse que los animales para este propósito deberán ser sanos, jóvenes y poco agresivos. Las hembras deben de presentar buenas características maternas, como son el cuidado de las crías y una buena producción de leche. La salud de los animales reproductores debe vigilarse continuamente. Cualquier signo de enfermedad debe de reportarse inmediatamente. Los núcleos reproductores nuevos no deben de introducirse en la colonia hasta que su estado de salud haya sido cuidadosamente revisado. La separación de los animales al destete generalmente les causa estrés. Los técnicos del bioterio deben por lo tanto asegurarse que el destete ocurra en una etapa apropiada del desarrollo (tabla 14.1).

### **MANTENIMIENTO DE ANIMALES REPRODUCTORES**

Una vez que se ha seleccionado el esquema de cruzamiento, el programa de apareamiento y el sistema de registro, se puede establecer la colonia de producción.

Una regla general es el manejo mínimo de los animales recién nacidos. Esta regla debe ser seguida por todos los técnicos del bioterio hasta que los animales sean destetados.

Los animales, especialmente las hembras de roedores y de conejos que cuidan a sus crías en su primera camada, se molestan cuando ocurren frecuentes observaciones o los cambios ambientales son muy marcados, estos animales tienden a abandonar, matar o canibalizar sus crías. Otra regla más en la colonia es la remoción continua de los animales muertos. El contacto directo de los humanos con las crías afecta particularmente a las madres. Si las crías tienen que ser manipuladas, estas no deben ser tocadas directamente. De preferencia estas deben ser manipuladas con guantes y movidas con el material de cama en el que se encuentran.

Las jaulas para animales deben proporcionarles confort, privacidad y el espacio suficiente para su desarrollo, así como también permitir las observaciones de rutina. La mayor parte de especies de roedores construyen nidos para sus crías, por lo que es conveniente proporcionarles material de papel suave o fibras de madera para que lo realicen.

El sistema de iluminación que proporciona 14 horas de luz por día es el mejor para las colonias reproductoras de roedores, este

período de iluminación más largo ayuda a las hembras a establecer ciclos estrales consistentes.

#### **IDENTIFICACION DE LOS ANIMALES**

Con el objeto de tener en operación un sistema eficiente de cruzamientos, se debe de prestar especial atención a los sistemas de identificación de los animales. Existe una gran variedad de métodos para identificar animales tanto en programas de reproducción como de investigación. El sistema apropiado de identificación es crítico para determinar el grado de consanguinidad así como las líneas de cruzamiento utilizadas.

#### **Tarjetas de las Cajas**

En el bioterio las tarjetas de las cajas se utilizan generalmente para identificar a cada animal o a un grupo de animales. La tarjeta de cada caja contiene información detallada acerca de la historia del animal, perfil genético, utilización y como contactar al responsable de este animal (Fig. 7.1). Esta información frecuentemente se necesita para proporcionar un apropiado cuidado de salud de los animales y proporcionar al investigador un mejor servicio.

#### **Identificación Temporal**

Existe una gran cantidad de métodos de marcaje temporal que pueden utilizarse en los animales de laboratorio. Por ejemplo el pelo puede cortarse o rasurarse en diferentes partes y con patrones diferentes. Se pueden utilizar marcadores o colorantes no tóxicos, a prueba de agua, colores brillantes, sin embargo debe recordarse que este tipo de marcaje desaparece rápidamente. Otros métodos temporales de identificación incluyen el anotar particularidades naturales como pueden ser el sexo, la textura del pelo, la longitud, la raza y algún patrón individual de color.

#### **Collares**

La identificación con collares se utiliza frecuentemente en gatos, perros y primates no humanos. El collar debe ser cómodo y tiene que revisarse rutinariamente para evitar que conforme crezca el animal, el collar pudiera apretarse. Así mismo los collares muy flojos pueden atorarse en alguna parte de la jaula o pueden ser arrancados por el animal. Los perros y los gatos que se obtienen de proveedores comerciales en los Estados Unidos presentan un número de registro del departamento de Agricultura, este número siempre debe estar disponible para su identificación. La placa que proporciona el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos y el vendedor deben permanecer en el collar del animal.

Los collares con placa son fáciles de manejar, elimina la necesidad de anestesia que se requiere por ejemplo en el tatuaje. Al igual que en otros tipos de identificación no permanente, las placas se pueden perder, romperse o mutilarse. La aplicación inapropiada de cadenas o collares puede ocasionar irritación de la piel e incluso estrangulación y puede interferir en el uso de vendajes u otros aparatos.

**Métodos de Identificación Permanente**

Existen varios métodos permanentes aceptables para la identificación de roedores de laboratorio y otras especies. Los métodos tradicionales que con el tiempo han demostrado ser efectivos son los que se describen a continuación. Sin embargo se están utilizando también nuevos sistemas electrónicos los cuales generalmente ocupan un microchip transmisor que se implanta en la piel del animal y el cual electrónicamente transmite una identificación única del animal portador del chip subcutáneo.

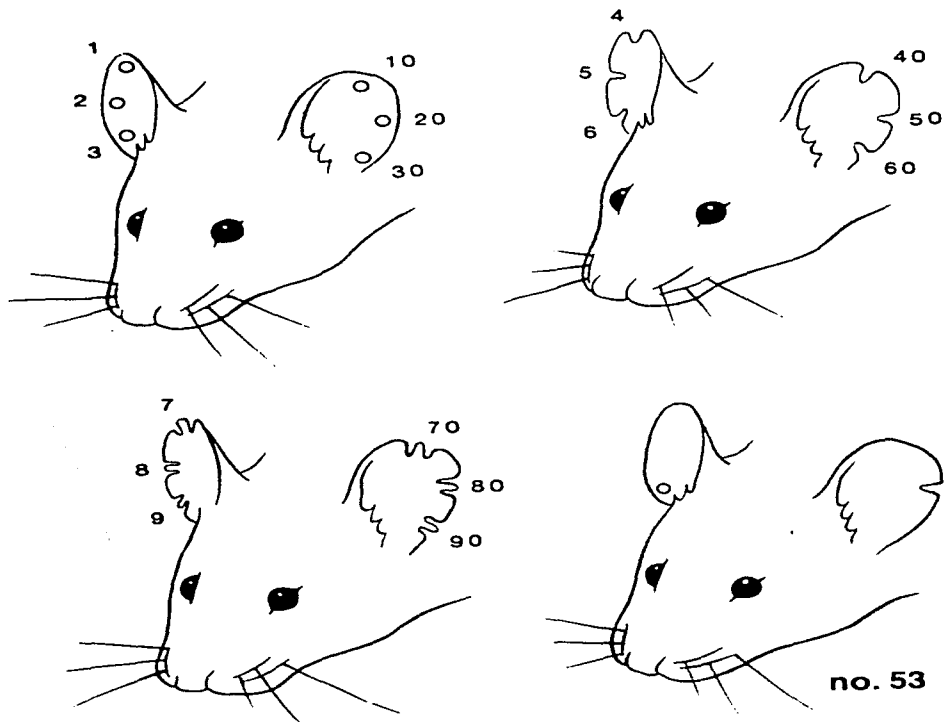
**Marcaje en las Orejas:** La perforación o muescas en las orejas en varias posiciones requiere del uso de una herramienta especial.

Las muescas u orificios corresponden a un código numérico predeterminado para cada individuo. El marcaje en las orejas es fácil de leer y produce muy poco trauma en el animal, siempre y cuando se haga adecuadamente. Un sistema adecuado es el que se muestra en la Figura 7.2. Esta técnica se utiliza comúnmente en roedores, excepto para los hámsteres y cobayos, en los cuales generalmente se destruyen ellos el marcaje por mordidas durante las peleas.



Investigador	_____	#teléfono	_____
Especie	_____	Raza o Cepa	_____
Fecha de nacimiento	_____	# Adquisición	_____
Fecha de recepción	_____	Origen	_____
# Identif. animal o # de Caja	_____		
# Protocolo	_____		

**Figura 7.1** Las tarjetas de las cajas proporcionan información útil, la cual es esencial tanto para el científico como para el técnico en animales que se encarga del cuidado de estos. Además cada animal debe ser identificado teniendo información disponible sobre sus padres en la colonia reproductiva.



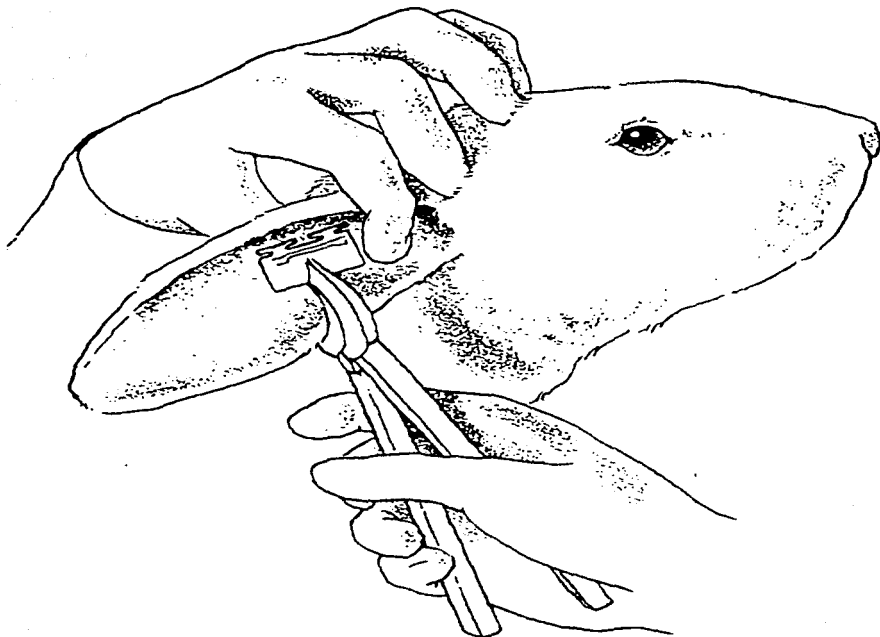
**Figura 7.2** Los ratones pueden ser identificados del número 1 hasta el 99 poniendo un agujero, una muesca, una doble muesca o alguna combinación de estas tres marcas en una o ambas orejas. Las marcas pueden hacerse en la parte anterior, media o posterior de las orejas. Las marcas en la oreja derecha de estos animales indican unidades: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 0. Las marcas en la oreja izquierda indican decenas: 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90. El animal del ejemplo es el número 53.

**Corte de Dedos:** El corte de dedos consiste en remover el primer hueso de algunos dedos de los pies, correspondientes a un código numérico predeterminado. Debido al pequeño tamaño de los pies de los roedores, este procedimiento consume una gran cantidad de tiempo y es más difícil de realizar que el marcado de las orejas. También, es mucho más estresante para el animal y tiene sus limitaciones cuando se utiliza en las manos o patas delanteras debido a que los animales utilizan estas para sostener la comida. Se recomienda que se utilice anestesia para este procedimiento. Este sistema se utiliza comúnmente en roedores y raramente falla en proporcionar una identificación permanente.

**Uso de Aretes o placas en las Orejas y Alas:** Generalmente son pequeñas piezas de metal que se engrapan y estas tienen un número individual. Generalmente se utiliza un instrumento que hace presión y que aplica el arete a la base de la oreja o en el ala de un ave. El procedimiento es rápido y produce muy poco malestar al animal. Este tipo de aretes o placas son utilizadas comúnmente en roedores, conejos, ovinos y aves. Al igual que en la perforación de las orejas, la identificación puede perderse durante peleas o porque los animales mastican o muerden la identificación, incluso en ocasiones llegan a ocurrir infecciones en el área. Para leer la identificación es necesario sujetar y levantar al animal.

**Tatuaje:** Las ratas recién nacidas y los ratones pueden identificarse en forma permanente utilizando el tatuaje en las orejas, la cola o los dedos de los pies. La tinta indeleble del tatuaje puede aplicarse subcutáneamente con una aguja. Usualmente se necesita una serie de puntos con un patrón especial para identificar al animal.

El tatuaje en las orejas es el método más efectivo para la identificación individual del conejo (Fig.7.3). Durante el tatuaje se debe de evitar el dañar la arteria medial de la oreja o la vena marginal de la oreja, existe suficiente espacio para el tatuaje entre estos dos vasos sanguíneos. El tatuador puede imprimir ya sea letras o números o una combinación de estos. Después de que se realizan las marcas en la oreja, la tinta se esparce dentro de las marcas. De esta manera penetra en la piel y deja una marca permanente. La tinta negra es la más comúnmente utilizada en los animales que tienen la piel blanca o con un color pálido y la tinta verde es la que se utiliza en aquellas razas que presentan la piel oscura. Los sitios para tatuar son susceptibles de sufrir infecciones sobre todo si el tatuaje se realiza con instrumentos sucios. El tatuador debe ser desinfectado después de que se utilice. La tinta del tatuaje tiende a esparcirse conforme el animal crece por lo que con el tiempo el tatuaje es difícil de leer. El tatuaje debe entonces de ser retocado después de algún tiempo.



**Figura 7.3** Un instrumento mecánico es usado para tatuar e identificar permanentemente un conejo. Para reducir el potencial de transmisión de organismos de un animal a otro, el tatuador debe ser desinfectado después de cada uso.

Técnicas similares de tatuaje pueden utilizarse en los cobayos, gatos, perros, monos y ungulados. El tatuaje también es un método permanente de identificación frecuentemente utilizado en los perros. Los tatuajes deben de ser colocados en las orejas o en la piel de los flancos o en la cavidad oral. Los perros deben de ser anestesiados para su tatuaje y deben de seguirse siempre técnicas asépticas. El área a ser tatuada debe de ser desprovista de pelo o rasurada, lavada con jabón y agua, secada y después desinfectada con alcohol. Existen dos tipos de tatuadores comúnmente utilizados. Uno es el mecánico que se opera manualmente y que es similar al que se ha descrito para conejos. En este las terminaciones afiladas de las agujas se colocan en la piel y la tinta penetra en los tejidos. Otros tipos de tatuadores son los lápices eléctricos. Estos cuentan con una aguja con varios puntos, los cuales se sumergen en tinta y después se marca la piel. Este instrumento puede ser utilizado en muchas especies de animales. En cada método de tatuaje la tinta debe ser distribuida por presión de la piel en las perforaciones, tanto para que detenga el sangrado como para que se distribuya. Si el sangrado se presenta puede ser necesario aplicar mayor cantidad de tinta en el tatuaje, asegurándonos así que el tatuaje sea legible. Estos instrumentos deben ser limpiados y desinfectados cada vez que se utilizan para evitar la diseminación de enfermedades.

El método más efectivo para la identificación de primates no humanos es el tatuaje de un número en el pecho o en la cara interna del muslo. Se deben de tatuar incluso a los animales que se alojan individualmente en sus jaulas y además debe de colocarse una tarjeta en la jaula con alguna otra información que sea pertinente.

## CAPITULO OCHO

### EL RATON

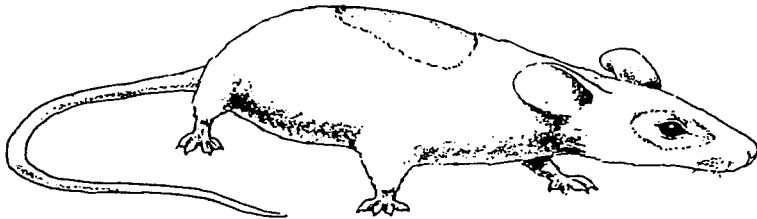
El nombre científico del ratón es *Mus musculus*. Los ratones son roedores pequeños que necesitan muy poco espacio para vivir. Son relativamente baratos tanto en su adquisición como en su mantenimiento. Los ratones usualmente tienen un temperamento afable y son fáciles de manejar. En términos generales son eficientes reproductores y producen muchas camadas en un período corto de tiempo. Son utilizados en una gran variedad de investigaciones incluyendo genética, inmunología y estudio de enfermedades infecciosas. Existen más de 100 cepas de ratones consanguíneos registradas. Unicamente siete u ocho son las más comunes en la investigación, las cuales incluyen BALB/c, C3H, C57BL/6, CBA, DBA/2 y A. También se utilizan poblaciones exogámicas o no consanguíneas las cuales generalmente son del tipo CF1, ICR, S y SW.

#### CONDUCTA

Los ratones normales se mantienen con las cuatro patas apoyadas en el piso, sus ojos abiertos y las orejas erectas. Cuando están dormidos los ratones colocan su cabeza bajo su cuerpo. Cuando se les aloja en conjunto los ratones tienden a dormirse en grupos apoyándose unos sobre otros. Los ratones continuamente acicalan su cuerpo. Esto les ayuda a mantener su cubierta de pelaje limpia y sedosa. Cuando los animales están enfermos o estresados dejan de acicalarse, su pelo se hace hirsuto y decrece su actividad, además tienden a adoptar una postura encorvada. Algunas veces los ratones se acicalan unos a otros, especialmente la hembra a sus crías. Los dientes de los ratones crecen continuamente. Generalmente no es necesario cortárselos debido a que los desgastan continuamente con la dieta o alimentos duros que consumen.

Los ratones son animales nocturnos. Ellos comen, beben y realizan otras actividades durante la noche. Normalmente un ratón sano nunca vocaliza. Sin embargo ellos emiten sonidos de alta frecuencia para comunicarse entre sí, los cuales son inaudibles para el oído humano.

Un ratón que tiene una conducta dominante sobre otros tiende a morderles el pelaje o las bibrisas para subordinar a los otros. Esta conducta se denomina rasurado y usualmente no es doloroso (Fig. 8.1). En algunos casos sin embargo, los animales subordinados pueden llegar prácticamente raspados, el rasurado no debe confundirse con la caída de pelo que se ocasiona por problemas de parásitos en la piel. Las hembras usualmente no pelean. Sin embargo cuando se agrupan a los machos, ellos se pelean frecuentemente y existen diferencias de agresividad entre cepas.



**Figura 8.1** El rasurado es un problema común en muchos tipos de ratones. No es una enfermedad y no está relacionada con ningún problema de salud. El rasurado sin embargo, debe de reportarse a la persona encargada de supervisar la salud de los animales, ya que si no está uno familiarizado con el problema pudiera causar alarma y confundirse con otros problemas de piel realmente severos.

Los ratones agresivos deben de mantenerse alojados en forma individual, dado que ellos pueden dañar severamente a sus compañeros de caja. Para prevenir las peleas es conveniente cuando se van a juntar animales machos, reunirlos desde el destete, de esta manera disminuyen las peleas conforme van creciendo.

#### **ALOJAMIENTO**

Los ratones pueden alojarse en cajas con piso de malla o en cajas en forma de caja de zapato con piso sólido, generalmente en grupos de cinco a diez animales por caja. El tamaño del orificio de la malla de las cajas con este piso debe de ser lo suficientemente grande para que el excremento pase a través de ellas, pero también lo suficientemente pequeño para que el animal se pueda apoyar fácilmente en el piso. Las cajas con piso de malla son inapropiadas para mantener animales reproductores, debido a que estos necesitan material de nido y que los animales pequeños pueden caer a través de la malla. Las cajas tipo caja de zapatos con material de cama, proporcionan a los ratones un ambiente tibio, seguro y material de nido. Las tapas de las cajas tipo de zapato, no presentan algún tipo particular de seguro o broche ya que simplemente descansan en el borde de la caja.

La limpieza del cuarto así como de las cajas es una actividad importante a realizar. Las cajas de los roedores con pisos sólidos así como sus accesorios se deben de lavar de una a tres veces por semana. El anaquel donde se depositan las cajas debe de lavarse cuando menos una vez al mes. Las cajas con piso de malla se deben de lavar cuando menos una vez cada dos semanas. El material de cama que se utiliza en las charolas recolectoras para las cajas con piso de malla, deben cambiarse también regularmente. Los cuartos de los animales deben limpiarse con detergentes y desinfectantes apropiados, lo suficientemente frecuente para mantenerlos libres de polvo, olores y contaminación.

#### **ALIMENTACION**

Existen varias dietas nutricionales completas para roedores, por lo que no es necesario suplementarlas.

El alimento se proporciona generalmente en bolos prensados de 4.5 gramos los cuales se denominan pellets. Los pellets son firmes y requieren que sean roídos por los animales. Estos pellets no deben ser demasiado duros ya que podría disminuir el consumo de alimento y por lo tanto ocasionar desnutrición.

También existen alimentos disponibles no peletizados los cuales generalmente se utilizan cuando es necesario medir el consumo de alimento o cuando se necesita agregar alguna sustancia en particular con propósitos de investigación. Generalmente a los roedores se les alimenta ad-libitum, esto significa que se les debe de proporcionar alimento y agua continuamente y a libre acceso.

El agua puede ser proporcionada a través de una botella o por un sistema de válvulas automáticas que llegan a cada caja.



### SUJECION E INMOVILIZACION

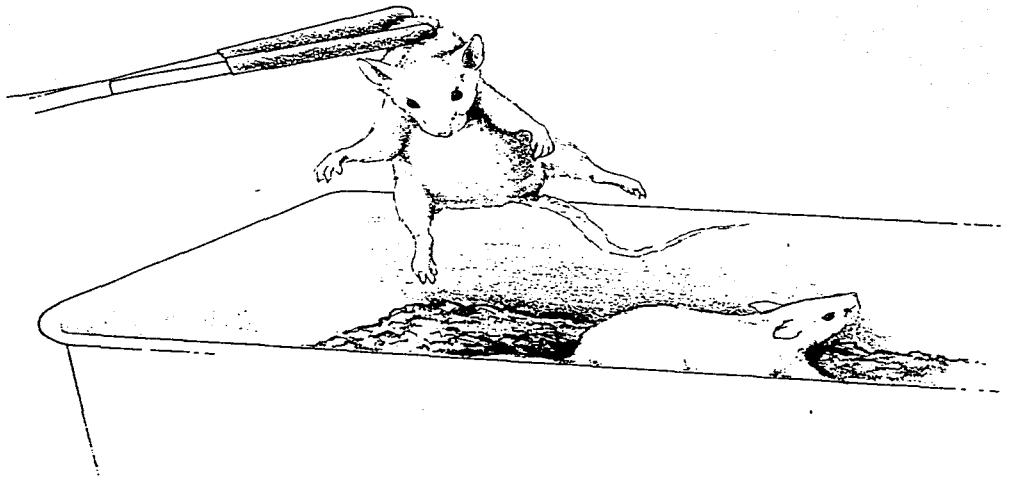
El método más apropiado para sujetar y coger a un ratón, es el de coger al animal por la cola, sujetándolo de la piel del cuello con los dedos índice y pulgar o sujetando al animal con unas pinzas con las puntas protegidas (Fig. 8.2). Ambos métodos son aceptables para examinar o cambiar de caja a los animales. Los animales muy jóvenes de menos de diez días deben de cogerse rodeando con la mano todo el cuerpo o con pinzas que sujeten los hombros, otra forma es cogiendo a varios ratoncitos juntos con una pequeña cantidad de material de nido.

Para una manipulación en la cual es necesario inmovilizar al animal, el animal se debe sujetar primero por la base de la cola y después sujetar toda la piel floja que se encuentra detrás del cuello y próxima a la cabeza. La cola debe sostenerse entre el cuarto y quinto dedo de la misma mano (Fig. 8.3). Si la piel es sujetada demasiado lejos de la cabeza el ratón será capaz de moverse, voltear y morder a quién lo sujeta. El ratón debe sujetarse firmemente pero sin apretar de tal manera que el animal no tenga problemas para respirar. Cuando se va a inmovilizar a los ratones por un período largo es conveniente utilizar algún dispositivo especial, como pueden ser cajas de plástico transparente esencialmente diseñadas para esto (Fig. 8.4).

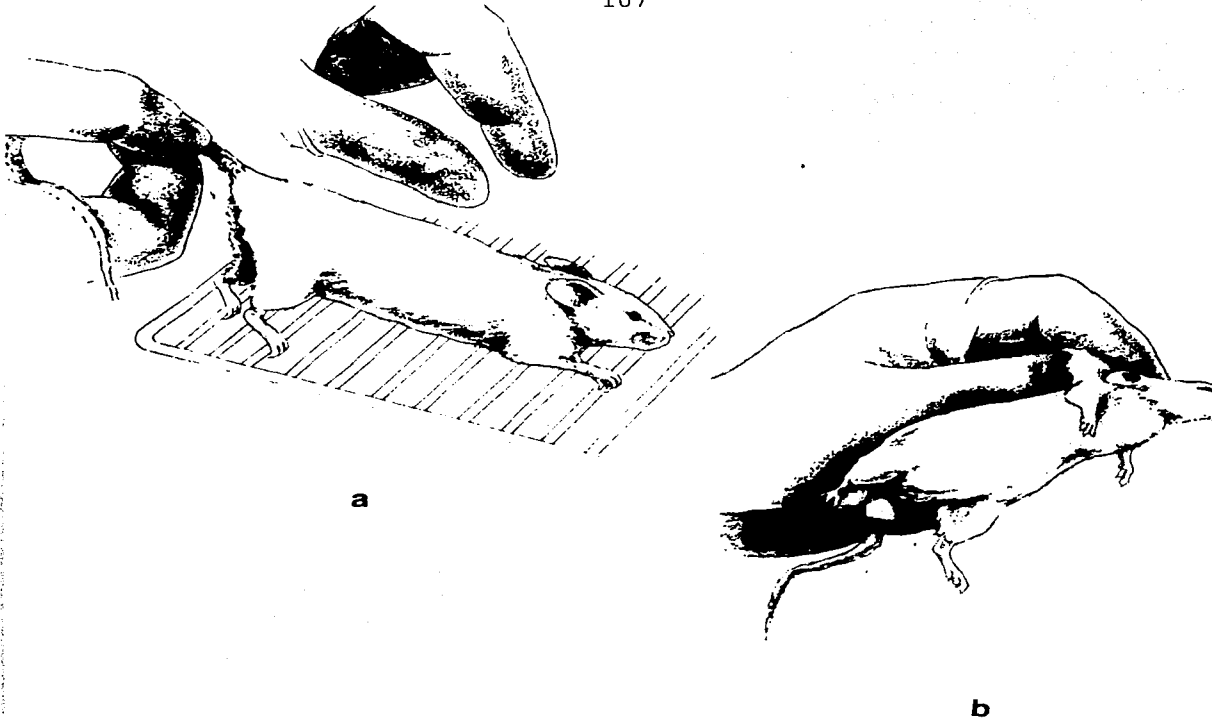
### SEXADO Y REPRODUCCION

La distancia ano-genital (la distancia entre el ano y la papila genital) en la mayor parte de los roedores es mucho mayor en el macho que en la hembra (Fig. 8.5). La determinación del sexo en los animales recién nacidos se realiza mejor comparando varios animales al mismo tiempo. En la mayor parte de los casos los roedores adultos presentan testículos bien delimitados y son fácilmente observables entre la cola y el pene.

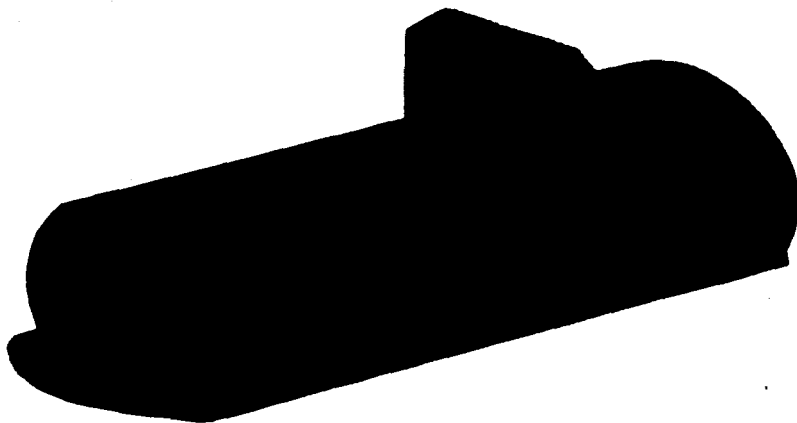
Los dos sistemas de apareamiento más utilizados en ratones son: sistema de pares monogámicos y sistema de harem o poligámico. Los machos pueden permanecer continuamente con las hembras o separarlos previamente al parto. Las hembras son poliestricas. Ellas presentan estro o calor cada cuatro a cinco días y 24hrs después del parto. El estro post-parto usualmente es fértil si el macho está presente. Las cepas consanguíneas tienen normalmente camadas más pequeñas que las poblaciones no consanguíneas. Los ratones reproductores y otros roedores usualmente construyen nido si tienen el material disponible. Los animales recién nacidos son rosas, carecen de pelo y necesitan el cuidado materno. Al nacimiento los ojos están cerrados por los párpados y el pabellón auricular no está completamente desarrollado. Debido a la presencia de estro post-parto, las hembras de los ratones frecuentemente realizan su siguiente parto justo al momento del destete o pocos días después.



**Figura 8.2** Un método que se utiliza para manipular brevemente a un roedor pequeño como el ratón, es el de sujetarlo por la piel floja que tiene detrás del cuello, ya sea directamente con la mano o utilizando una pinza de disección limpia y con protectores. También se puede sujetar al ratón por la cola para pasarlo de un lado a otro.



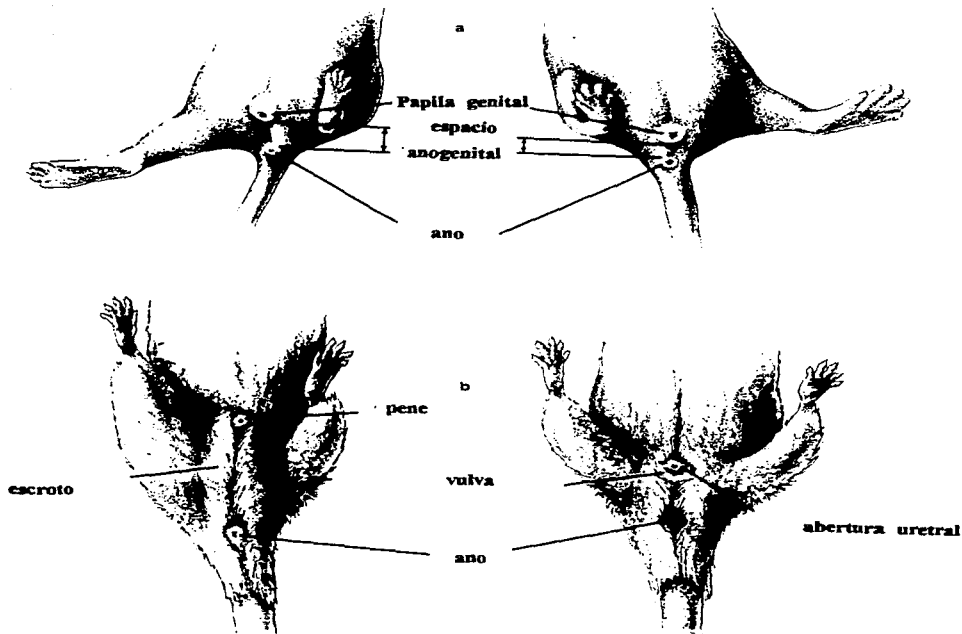
**Figura 8.3** Se ilustra un método aceptable de inmovilización el cual es confortable para el animal y protege también a quien lo sujeta. Inicialmente el animal es colocado sobre una superficie rugosa, de la cual se pueda sujetar el animal, como puede ser la tapa de la caja, mientras que se le sujeta de la base de la cola con la mano (a). El área del cuello es sujeta por la mano menos hábil, mientras que la cola es sujeta con el cuarto y quinto dedo de la mano (b). Esta forma de inmovilizar al animal permite al técnico mantener su mano hábil disponible para realizar otras funciones mientras que se inmoviliza con la otra mano al animal.



**Figura 8.4** Se ilustra un dispositivo para inmovilizar ratones hecho en acrílico transparente. Los inmovilizadores de ese tipo están disponibles en diferentes tamaños, con diferentes perforaciones que permiten la obtención de muestras y una puerta que es ajustable al tamaño del animal.

Macho

Hembra



**Figura 8.5** Para el sexado de animales jóvenes (a) y adultos (b) se realiza de la observación de la distancia entre la apertura del ano y el meato urinario, la distancia siempre es mayor en los machos que en las hembras.

## LA RATA

La rata común de laboratorio, Rattus norvegicus, fue desarrollada a partir de la rata silvestre café Norvegica. Actualmente existen varias cepas de ratas consanguíneas y poblaciones no consanguíneas, es más común la utilización de poblaciones no consanguíneas en los laboratorios. Las ratas se emplean como modelos en estudios nutricionales y de conducta.

### POBLACIONES NO CONSANGUINEAS DE RATAS

Los tres tipos de ratas no consanguíneas más comúnmente utilizadas en la investigación son:

1.- Wistar (WI). Esta es una rata albina desarrollada en el Instituto Wistar de Philadelphia. Tiene una cabeza y orejas relativamente grandes. La cola es mucho más corta que el resto del cuerpo.

2.- Sprague-Dawley (SD). Originalmente producida por la granja Sprague-Dawley en Madison Wisconsin, es una rata albina más pequeña y de más rápido crecimiento que la Wistar. Tiene una cabeza larga y estrecha, su cola es del mismo tamaño que el resto del cuerpo.

3.- Long-Evans (LE). Esta rata es mucho más chica que la Wistar o la Sprague-Dawley. Su cuerpo es blanco y está cubierto por parches negros, su cabeza es usualmente negra. Debido al color negro de la cabeza "capucha" a este animal también se le denomina rata encapuchada.

Las cepas consanguíneas más utilizadas en la investigación son la F344, LEW y la SD.

### CONDUCTA

Las ratas normalmente apoyan sus cuatro patas sobre el piso de la caja. Uno de los primeros signos que delatan un pobre estado de salud es que la rata adopta una posición encorvada. Las ratas sanas generalmente mantienen su pelaje limpio y sedoso. Al igual que otros roedores de laboratorio, las ratas son criaturas nocturnas. A diferencia de los ratones machos, cuando las ratas se agrupan no pelean. Las ratas hembras también son dóciles cuando se les aloja en grupo.

### ALOJAMIENTO

Las ratas pueden alojarse en cajas en forma de caja de zapatos que contienen una cantidad adecuada de material de cama de contacto. Se puede utilizar tanto el alojamiento individual como en grupos. Las ratas al igual que otros roedores pueden también mantenerse en cajas con piso de malla. Las ratas son mucho más fuertes que los

ratones.

Las ratas son capaces de golpear y levantar las tapas de las cajas y escapar. Para evitar esto, las tapas de las cajas que contengan ratas deben de tener un seguro o broche que impida el escape de los animales. Las cajas de las ratas deben de cambiarse una o dos veces por semana dependiendo del número de animales que se mantienen en la caja. Los anaqueles deben de desinfectarse al menos una vez cada dos semanas y las charolas deben de limpiarse al menos dos veces por semana.

#### **ALIMENTO**

Las ratas al igual que los ratones, comúnmente se alimentan ad libitum. De hecho en la mayoría de los bioterios la misma comida que se proporciona a los ratones se les da a las ratas y hámsteres. Estas dietas están balanceadas y preparadas para mantener una dureza que permita el desgaste de los incisivos. Ya que al igual que en los ratones estos crecen continuamente. Para proporcionar agua a los animales se pueden utilizar sistemas automáticos o botellas.

#### **SUJECION E INMOBILIZACION**

Las ratas jóvenes pueden cogerse de la base de la cola. Si la cola es sujeta cerca de su posición distal, la piel tiende a desprenderse lo que puede ocasionar una seria lesión al animal. Este método de manipulación se utiliza principalmente para manejarlos por un período muy breve, como cuando se cambian de caja. Un método seguro tanto para la rata como para el operador, es la de sujetar la totalidad del cuerpo de la rata. Inicialmente la rata debe ser cogida por la base de la cola y después se coloca la mano sobre la espalda del animal con los dedos pulgar e índice presionando las patas delanteras y la cabeza. Si se requiere mayor control, la cola y extremidades posteriores se sujetan con la otra mano (Fig. 9.1). La rata no debe de ser sujeta fuertemente alrededor del tórax ya que esto le impide respirar.

#### **SEXADO Y REPRODUCCION**

Al igual que la mayor parte de los roedores, la distancia anogenital es el doble en el macho que en la hembra. En los machos adultos los testículos son muy prominentes y se observan cerca de la base de la cola.

Las ratas pueden mantenerse en pares monogámicos o en sistema poligámico (harem). Las hembras son poliestricas y tienen un estro post-parto. Ellas presentan calor y son receptibles al macho 24hrs. después del parto.

Los animales jóvenes como en el caso del ratón son de color rosado, carecen de pelo y requieren del cuidado materno.



**Figura 9.1** Para sujetar e inmovilizar a una rata, primero se le debe de tomar de la base de la cola, después se le sujeta firmemente sin realizar demasiada presión, colocando la mano alrededor del tórax y justo detrás de las extremidades anteriores pero restringiendo el movimiento de la cabeza. Generalmente no es necesario que un técnico bien entrenado utilice guantes para sujetar un animal como se muestra en el dibujo.



## CAPITULO DIEZ

## HÁMSTERS, COBAYOS Y OTROS ROEDORES

Los ratones y las ratas son las especies más comúnmente utilizadas en los laboratorios. Los hámsters y los cobayos, sin embargo también son especies importantes como animales de laboratorio.

## HÁMSTERS

En el laboratorio, el hámster dorado de Siria, *Mesocricetus auratus*, es la especie más ampliamente utilizada. Tiene un cuerpo voluminoso, una cara ancha y una cola corta, además presenta sacos bucales denominados abazones, los cuales utiliza para transportar o almacenar temporalmente la comida. También se utilizan algunas otras especies de hámsters en los bioterios. Cuando los abazones del hámster están llenos parece que tiene paperas. Los hámsters dorados de Siria tienen un pelaje de color dorado rojizo en su cabeza, espalda y a los lados, en el área ventral tienen un pelaje color grisáceo. Su excremento es seco y duro si se le compara con el de la rata y los ratones. Los hámsters orinan normalmente un fluido espeso y de color lechoso amarillento.

## CONDUCTA

Los hámsters generalmente muerden cuando se les intenta manejar. Lo mejor para aproximarse a un hámster es por el frente para que no se asusten. Si se les maneja frecuentemente y con cuidado, los animales se vuelven dóciles.

Comparados con otras especies de roedores de laboratorio, los hámsters son agresivos. Las hembras usualmente dominan a los machos y los animales del mismo sexo usualmente son dominados por el de mayor peso. Una vez que se establece una relación dominante/subordinado ésta tiende a ser estable, permitiendo a los hámsters vivir juntos relativamente en paz. No se recomienda, sin embargo, que los hámsters sean movidos de caja con nuevos compañeros excepto cuando estos forman una relación pacífica y estable. Cuando un hámster es demasiado agresivo puede ser necesario que se le aloje individualmente.

Los hámsters pueden invernar si la temperatura del cuarto baja alrededor de los 5 °C. Esto no es un problema para la mayor parte de los bioterios, a menos que no tengan sistemas de calefacción o ambiente controlado.

Los hámsters machos tienen glándulas odoríferas muy prominentes en sus flancos. Estas están cubiertas por pelaje grueso y tienen una coloración oscura sobre la piel. Los machos utilizan la secreción de estas glándulas para marcar su territorio.

### **ALOJAMIENTO**

Los hámsters usualmente se les mantiene en cajas en forma de caja para zapatos de al menos 14.7 cm (6 pulgadas) de altura.

Dado que a ellos les gusta enterrarse, se les debe proporcionar material de cama suficiente para que lo hagan. Los hámsters tienden a escapar de las cajas, así que estas deben de ser seguras. No deben de existir cuarteaduras u hoyos en las cajas ya que los hámsters tenderán a morderlas, hacer más grande el orificio y salir. Los requerimientos de desinfección son similares a los de las ratas y los ratones que se alojan en este tipo de cajas.

### **ALIMENTO**

Los hámsters pueden alimentarse con alimento comercial. El alimento y el agua deben de estar disponibles *ad-libitum*. El agua puede proporcionarse en botellas o en sistemas automáticos.

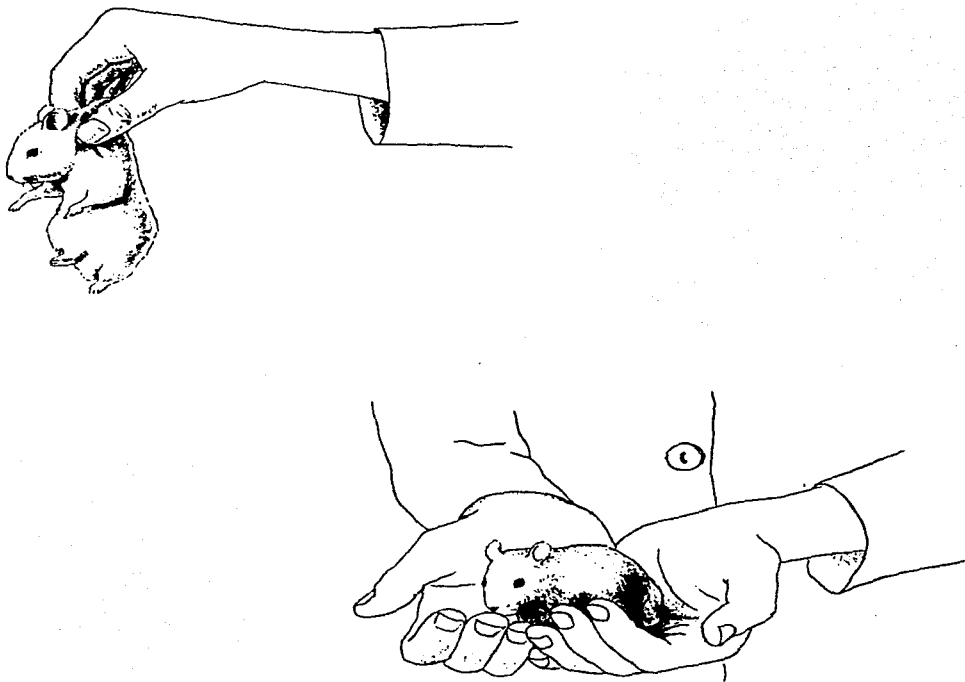
Los hámsters son animales hacendosos que usualmente escogen una esquina de la caja para depositar sus desechos y otro para almacenar su comida. Es conveniente colocar alimento en el piso de la caja, debido a que los animales jóvenes empiezan a comer sólido a los 7 o 10 días y es posible que tengan problemas para alcanzar las tapas donde se coloca el alimento.

### **SUJECION E INMOVILIZACION**

Los hámsters son fáciles de sujetar por la piel que tienen sobre los hombros o utilizando las manos juntas como cucharón, de esta manera se les puede transportar de una caja a otra (Fig. 10.1). Los hámsters se inmovilizan sujetando suave pero con firmeza la piel suelta que tienen en la espalda. Esta sujeción se puede realizar colocando al hámster sobre una tapa de caja u otra superficie plana y presionando suavemente con la palma de la mano en contra de la espalda del hámster, manteniendo los dedos derechos. Los dedos y el pulgar se flexionan después alrededor del animal sujetando la mayor cantidad de piel suelta posible. La piel se sujeta firmemente con la mano mostrando fácilmente el abdomen y el tórax (Fig. 10.2). El animal no se debe sujetar tan fuerte que se le dificulte respirar o tan suavemente que pueda morder a quien lo sujeta.

### **SEXADO Y REPRODUCCION**

Los hámsters adultos machos son fácilmente identificables de las hembras. Estos tienen testículos grandes que se proyectan hacia la porción terminal del animal dándole una apariencia más puntiaguda que en el caso de la hembra (Fig. 10.3).



**Figura 10.1** Técnicas aceptables para transportar hámsters. Estas técnicas usualmente se utilizan para transportar hámsters a distancias cortas, por ejemplo durante el cambio de cajas.



**Figura 10.2** El sujetar con toda la mano al hámster se utiliza para su inmovilización. La manera para controlar al animal durante los procedimientos técnicos es sujetándolo de la piel del dorso.

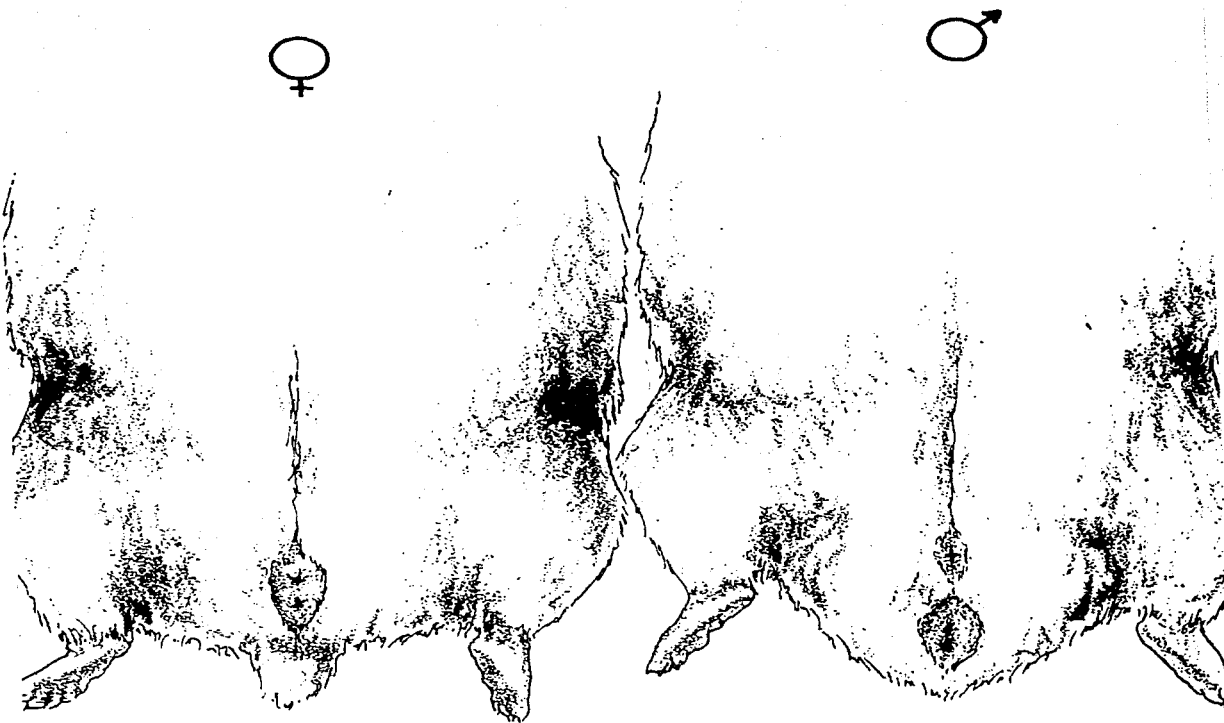


Figura 10.3 El hámster macho (derecha) se identifica fácilmente de la hembra (izquierda), por su largo saco escrotal.

Se han utilizado con éxito en los hámsters, cuatro sistemas diferentes de apareamiento: la monta controlada, el sistema monogámico, el sistema de montas intermitentes y el de harem. En el sistema de monta controlada, la hembra es introducida en la caja del macho al término del ciclo estral. Si la hembra está en estro usualmente la monta ocurrirá en unos cinco minutos. El macho y la hembra se separan después de la monta, ya que si la hembra no se encuentra en estro se peleará con el macho.

En el harem, un macho y dos o tres hembras (o varios machos y un número mayor de hembras) se mantienen juntos. Las hembras son retiradas de la caja al menos dos días antes del parto y se les mantiene en forma individual con su camada hasta el destete. Pueden ocurrir peleas si las hembras son regresadas al grupo de la caja.

En la monta intermitente las hembras son colocadas en forma secuencial con uno o dos machos por semana. Las hembras después son separadas en sus cajas para dar a luz o hasta que se determine que no están gestantes. Con este método puede ocurrir que los animales machos resulten dañados e incluso tengan que ser eliminados.

El sistema de pares monogámicos puede ser muy exitoso si los animales son colocados juntos inmediatamente después del destete, antes de que estos se vuelvan agresivos. En un sistema exitoso de cruzamiento permanente, las camadas pueden aparecer con intervalos de 35 a 40 días, iniciando tan temprano como 30 días después de que los hámsters han sido colocados juntos. En este y en otros sistemas de apareamiento los hámsters deben de ser provistos con los materiales apropiados para hacer nido dado que es muy especial para ellos el contar con éste.

Cuando estos animales son perturbados por alguna persona poco familiar a ellos, la hembra puede tratar de esconder a sus crías en sus sacos bucales. Si esto ocurre la hembra debe dejarse sola y retirar a sus crías cuando el peligro ha pasado. Para reducir la posibilidad de canibalismo, las hembras gestantes no deben de ser molestadas durante el aislamiento pre-parto hasta que sus crías tienen alrededor de siete días de edad. Sin embargo aún sin que ocurran molestias es posible que la hembra se coma ha su primera camada.

#### COBAYOS

El nombre científico del cobayo es *Cavia porcellus*. Estos animales también son conocidos como cuyos. Existen varios aspectos de la anatomía del cobayo y de su socialización que difieren de la mayoría de los roedores de laboratorio. Estas características son particularmente importantes cuando se desarrollan programas para el cuidado de los cobayos. Existen poblaciones no-consanguíneas y cepas consanguíneas de cobayos. Las cepas 13 y 2 son ejemplos de cepas consanguíneas y de poblaciones no-consanguíneas la Dunkin Hartley (DH) y la de pelo corto (SH).

### CONDUCTA

Los cobayos tienen patas relativamente cortas y cuerpos voluminosos. Como resultado de esto, ellos no pueden trepar o saltar al igual que otros roedores.

Los cobayos generalmente vocalizan a un nivel de sonido mucho más alto que el de los roedores. Cuando se encuentran con dolor o angustia, ellos emiten un sonido fuerte. Las actividades diarias de los técnicos de laboratorio como el movimiento de los carritos del alimento de los cuartos pueden provocar el que estos animales empiecen a chillar o a silbar en coro. Ellos también emiten estos sonidos cuando se les separa de sus compañeros de caja, o cuando se les cambia a otra caja.

### CRIANZA

Los cobayos generalmente se mantienen en cajas con material de cama de contacto, pero también se pueden utilizar sistemas de cajas con piso de rejillas suspendidos. Para proporcionar un adecuado tamaño de caja es conveniente utilizar cajas que tengan apariencia rectangular. Debido a su poca habilidad para trepar no se requiere que las cajas tengan tapas. Los cobayos producen una gran cantidad de orina y de excremento. Por lo que es necesario cambiar varias veces el material de cama, así como la limpieza de las jaulas.

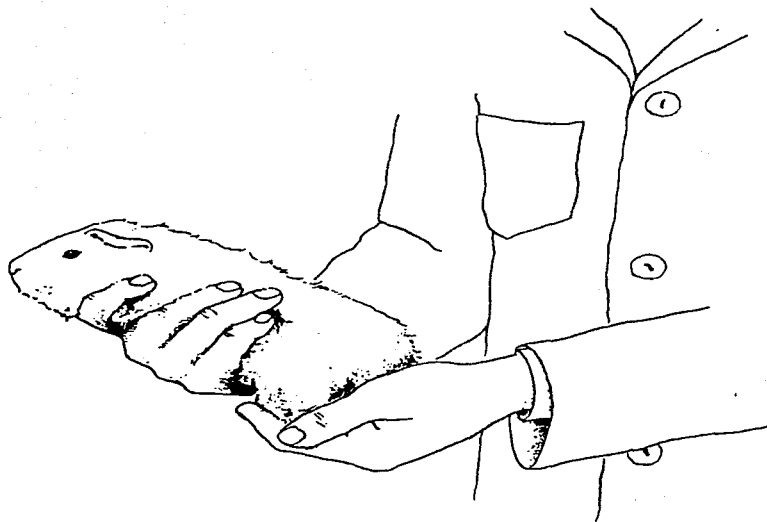
### ALIMENTACION

Se les debe proporcionar dietas ricas en vitamina C, dado que al igual que los primates no-humanos, ellos no pueden sintetizar su propia vitamina C como ocurre con otros animales de laboratorio. La vitamina C que contienen los alimentos se deteriora muy rápidamente, incluso bajo condiciones de almacenamiento ideales. Los cobayos deben ser alimentados con comida que no tenga más de 90 días de haber sido preparada. La deficiencia de vitamina C ocasiona una enfermedad fatal denominada escorbuto. La dieta típica para roedores en presentación de pellets de 4 a 5 gramos no puede ser ingerida por estos animales. Por el contrario, requieren de pellets más pequeños. El alimento comercial que existe para cobayos y conejos es muy similar, pero el alimento de conejos carece de las necesidades de vitamina C para lo cobayos.

Los cobayos pueden tomar agua de botellas o de sistema de bebedero automático. Estos animales tienen la tendencia de jugar con las pipetas y las válvulas para el agua por lo que desperdician grandes cantidades de agua.

### SUJECION E INMOVILIZACION

La limitada agilidad y dócil naturaleza de los cobayos los hace más fáciles de sujetar que los otros animales de laboratorio. Para inmovilizarlos se coloca una mano sobre la espalda del animal con el pulgar y el índice directamente debajo de las patas delanteras.



**Figura 10.4** Técnica para transportar e inmovilizar un cobayo con una menor manipulación.



La otra palma se coloca bajo los cuartos posteriores. Los animales pueden ser transportados de esta manera (Fig. 10.4). Para obtener un mejor control, los dedos de la mano pueden apoyar la cadera y sujetar las patas posteriores.

#### **SEXADO Y REPRODUCCION**

Las características sexuales externas de los cobayos son difíciles de determinar visualmente especialmente en los animales jóvenes antes de que los testículos estén completamente desarrollados. A diferencia de los demás roedores existe poca diferencia en la distancia ano-genital de lo cobayos macho y hembra. El pene puede sentirse en el área inguinal y ser protuido por presión manual.

El sistema de monta monogámico o el sistema de harem generalmente trabajan bien para los cobayos. Las hembras gestantes generalmente se retiran para mantenerlas en una caja por separado antes del parto. Como resultado de la larga gestación de los cobayos, la cría nace con cubierta completa de pelo, los ojos están abiertos al nacimiento y prácticamente pueden inmediatamente ingerir comida solida como complemento a la alimentación materna.

#### **OTROS ROEDORES**

Existen varios tipos de roedores que también son utilizados como animales de laboratorio. Entre estos se encuentran los Gerbos y las Marmotas. Los detalles y las características de reproducción de estas especies de roedores menos comunes se proporcionan en la siguiente sección de este manual de técnicos en animales de laboratorio.

## CAPITULO ONCE

### CONEJO DE LABORATORIO

Los conejos fueron domesticados primero en Europa en el siglo XVI y han sido utilizados para una gran variedad de propósitos en la investigación biomédica. Además de ser utilizados como modelos para enfermedades, también han sido utilizados para la producción de anticuerpos, valoración y control de drogas y pruebas de pirógenos. El conejo blanco de raza Nueva Zelanda es el más ampliamente utilizado en la investigación. El nombre científico del conejo es *Oryctolagus cuniculus*.

#### CONDUCTA

Los conejos son animales activos y curiosos que utilizan la mayor parte del tiempo explorando los objetos que los rodean. Son hábiles para escapar de cajas que no estén bien cerradas. Las puertas de las jaulas y los pisos removibles deben de estar colocados perfectamente. Las cajas deben de tener tarjetas firmemente adheridas a la caja o jaula de tal manera que no puedan ser movidas por el animal o masticadas por él. Los conejos normalmente apoyan las cuatro patas sobre el piso, distribuyendo ampliamente su peso y manteniendo la cabeza a nivel de la espalda. Generalmente se mueven alrededor de la caja con pequeños saltos u ocasionalmente permanecen apoyándose sobre las patas posteriores. El resto del tiempo especialmente si hace calor los conejos pueden estirarse sobre uno de sus costados o sobre el estómago con su cabeza apoyada sobre el piso de la jaula. Cuando los conejos se asustan éstos incluso corren alrededor de la jaula, golpeando sus patas traseras en el piso o se arrinconan en la esquina.

Los conejos son animales de un temperamento mediano. Ocasionalmente, pero de manera especial cuando están estresados o asustados pueden intentar morder o saltar sobre la persona que intenta manejarlos. Los conejos algunas veces muestran agresividad o temor golpeando con sus patas traseras. Los conejos pueden vocalizar cuando son dañados o están extremadamente asustados.

Los conejos son sensibles a los ruidos y pueden reaccionar violentamente a ruidos sorprendivos y fuertes. Por lo que las instalaciones para conejos deben de localizarse lo más alejado posible de las zonas ruidosas.

Las uñas de los conejos crecen rápidamente. En los animales silvestres el desgaste se da a través de que escarban y de que corren. Cuando los animales se mantienen en jaulas no hay forma de que se realicen estos propósitos, por lo tanto las uñas continúan creciendo, por lo que es necesario que se les corten periódicamente. Las uñas deben de cortarse a tal nivel de que queden cortas pero no lleguen a sangrar, dado que el sangrado puede ser difícil de detener.

Los conejos son mucho más activos al anochecer que durante el día. Ellos se alimentan y toman agua principalmente durante el ocaso o al inicio de la noche y se mantienen dormidos durante el resto del día.

#### **ALOJAMIENTO**

La temperatura óptima de mantenimiento para estos animales es de 16°C a 20°C. Las bajas temperaturas reducen la cantidad de defecación y frecuentemente se pueden presentar problemas gastrointestinales como puede ser bloqueo por bolas de pelo.

Los conejos de laboratorio usualmente se mantienen en jaulas de acero inoxidable con un sistema de cama indirecto o de no contacto. La parte baja de los lados de las jaulas, la parte posterior y el frente de la caja generalmente tiene láminas de metal. La parte superior y la tapa, generalmente están hechas de barras de metal delgado o de lámina de metal perforada. Este diseño evita que el conejo esparza la orina fuera de la caja, favoreciendo la ventilación y permitiendo que se pueda observar fácilmente al animal (Fig. 11.1).

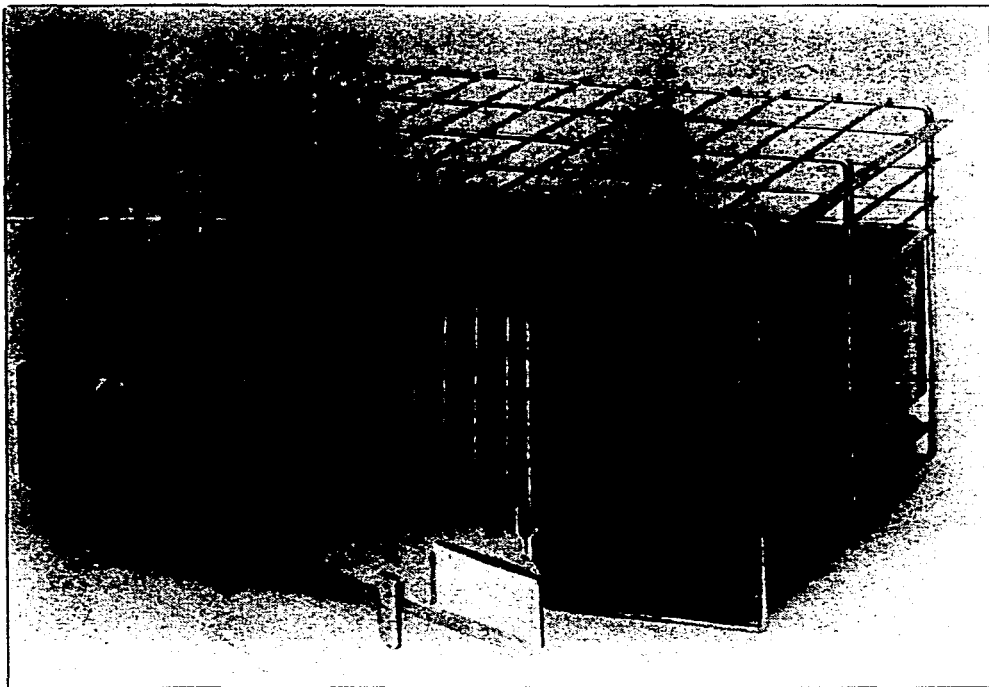
Las perforaciones o espacios del piso de las jaulas deben de ser lo suficientemente pequeñas para evitar que las patas del conejo caigan por alguno de los orificios, pero deben ser lo suficientemente grandes para permitir que el excremento caiga y pase a través de ellos hacia la charola que se encuentra por debajo. Las jaulas de los conejos deben de ser lavadas al menos cada dos semanas. Las charolas con las excretas deben de vaciarse y limpiarse dos a tres veces a la semana y lavarse de la misma manera que las cajas.

#### **ALIMENTACION**

Se debe de suministrar continuamente agua limpia y fresca, ya sea utilizando botellas o con sistema de bebederos automáticos. Las botellas deben de estar firmemente colocadas en las jaulas utilizando soportes, dado que los conejos tienden a morder los tubos o pipetas de las botellas así como empujarlas, lo que puede provocar que caigan y se rompan.

Los comederos deben estar también firmemente asegurados a la jaula.

Los conejos dejan de comer cuando se les priva de agua, por lo tanto cuando los conejos dejan de comer, una de las primeras cosas que se deben de revisar es el suministro de agua. A los conejos que se les proporciona agua a través de bebederos automáticos, debe de entrenarseles a utilizar las válvulas, esto se hace mostrando como funcionan cuando pasa diariamente el técnico en animales de laboratorio a revisar las válvulas.



**Figura 11.1** Esta es una caja típica para conejos con un comedero en forma de "J", con piso de barra suspendido y una charola para excretas en la parte inferior la cual es fácilmente removible. Estas charolas deben de limpiarse regularmente para reducir los olores y para favorecer el proceso de limpieza y desinfección.

Los conejos deben de alimentarse con dietas formadas a través de pellets, normalmente utilizando los comederos en forma de "J". Los conejos normalmente muerden o trituran con sus molares el alimento que se les proporciona. Sin embargo esto no lo pueden hacer si los bloques de alimento son grandes. Las dietas que se preparan comercialmente para conejos están balanceadas para proporcionar los nutrientes y contenido de fibra adecuada. Los conejos tienden a sobrecomer, por lo que frecuentemente se les debe de alimentar midiéndoles la cantidad de alimento. Esto ayuda a prevenir la obesidad, promueve el buen estado de salud y reduce el desperdicio de alimento.

Uno de los primeros signos de enfermedad de los conejos es la pérdida del apetito. Dado que los conejos adultos Nueva Zelanda blancos consumen alrededor de 150 gr. de alimento al día como una dieta de alimento, es fácil para el técnico de animales de laboratorio monitorear o vigilar el apetito de los animales. Si un conejo adulto consume mucho menos de este nivel debe de avisarse inmediatamente al supervisor.

#### **SUJECION E INMOVILIZACION**

Los conejos son por lo regular animales tímidos y excitables. Ocasionalmente se resisten al manejo, en este caso pueden ser peligrosos para el manejador y hacerse daño ellos mismos. Los conejos pueden ser inmovilizados físicamente o por métodos manuales o mecánicos. Los métodos que se seleccionen dependen del tipo o procedimientos a realizar.

Si se les maneja con firmeza pero gentilmente, los conejos tienden a relajarse y cesan en su intento de escapar o pelear. Para retirar a un conejo de su jaula, se le debe de sujetar por la piel del cuello y la espalda con una mano y apoyando las patas posteriores y el vientre en la otra mano (Fig.11.2). Esto ayuda a evitar que el conejo trate de patear con sus poderosas patas traseras. Si no se le da apoyo a las patas, el animal puede provocar serias lesiones a su manejador o así mismo.

Cuando se transporta un conejo, la cabeza debe de introducirse entre el brazo y el cuerpo del manejador, el brazo mantiene sujetas las patas (11.3). Esto permite al manejador el control de la cabeza y las patas con una mano, mientras queda libre la otra mano para abrir la puerta de la jaula. Los conejos nunca deben de sujetarse levantándolos de las orejas ya que esto puede provocar una lesión sumamente dolorosa en el cartilago auricular. Para examinar la cabeza, boca, dientes y ollares (fosas nasales) se les debe de sujetar de la piel del cuello. Mientras se apoya la cadera, se gira el conejo boca arriba y se coloca en forma recumbente al animal sobre el brazo que esta sujetando la piel del cuello. Esto deja al manejador una mano libre con la cual puede examinar al conejo. La revisión de los genitales y el sexado puede realizarse sosteniendo el conejo sobre su espalda, sobre la extensión del brazo, permitiendo a una mano permanecer libre para la revisión. Si esto se realiza con un animal relajado pero sujeto firmemente el animal

permanecerá quieto.

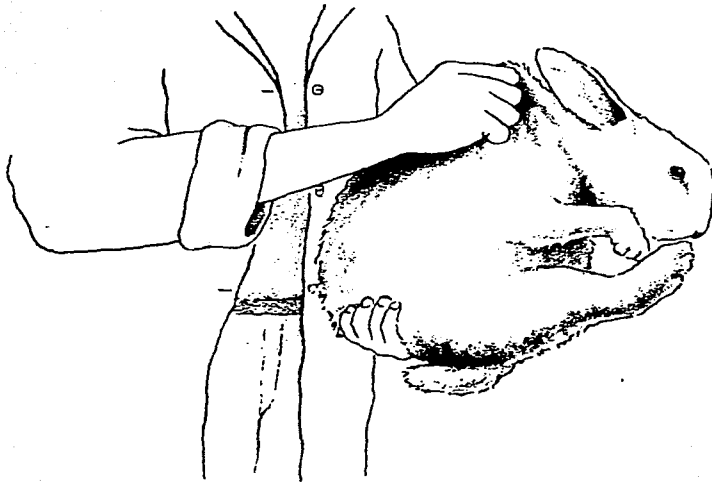
Para inmovilizar a un conejo en forma física, se coloca en una caja especial o dispositivo de inmovilización. Esta técnica frecuentemente se utiliza cuando se quiere tener acceso a las orejas para su sangrado, inyección intravenosa, o algún tratamiento en particular. El dispositivo para inmovilización debe de ser de tamaño apropiado para cada conejo. Estos dispositivos cuentan con una parte que se desliza y se fija contra la cadera del conejo. Esto ayuda a mantener la cabeza en una posición, lo cual evita que el conejo se empuje hacia atrás. Este dispositivo permite a una persona obtener sangre o realizar procedimientos menores en conejos, de una manera segura y efectiva. El conejo debe ser sujetado con calma, ya que un manejo violento puede provocar un daño en la espina dorsal. Por esta razón el animal nunca debe ser dejado sin atención en el contenedor y siempre se le debe de sujetar firmemente las patas traseras.

#### **SEXADO Y REPRODUCCION**

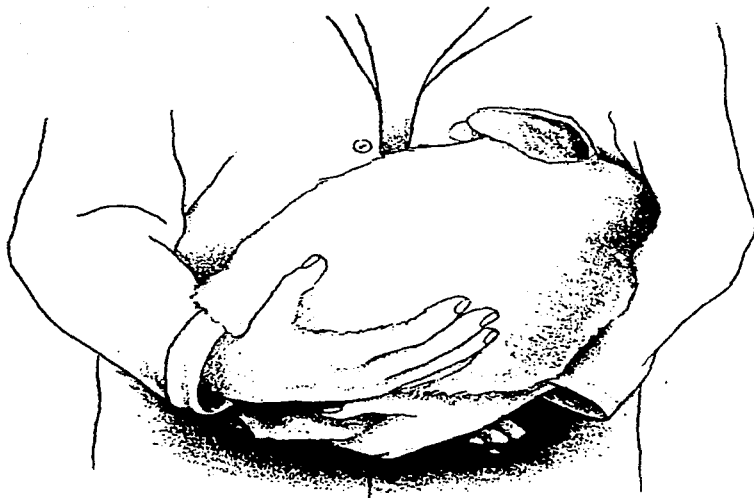
Los conejos machos son denominados sementales y las conejas como hembras reproductoras. Los conejos nunca deben ser sexados por sus características sexuales secundarias como es la forma corporal. El macho tiene el escroto visible el cual contiene los testículos. El pene puede ser exteriorizado presionando suavemente con el pulgar y el índice de adelante hacia atrás del escroto. Los conejos jóvenes pueden sexarse examinando la región urogenital. La vulva de una hembra puede ser vista como una hendidura puntiaguda y el prepucio del macho parece estar redondeado con la apariencia de una dona abierta.

Los conejos son animales polígamos, ellos no forman parejas permanentes. Un macho puede ser capaz de copular con muchas hembras y puede ser utilizado para reproducción cinco veces a la semana. La hembra siempre es llevada a la jaula del macho para la reproducción debido a que la hembra es territorial y puede pelear con el semental cuando éste es llevado a la jaula de ella. Es más, si el macho es llevado a la jaula de la hembra puede que él este más interesado en marcar el territorio que en realizar la cópula.

A diferencia de la mayoría de los mamíferos, las hembras no tienen un ciclo estral verdadero. Ellas tienen cierta periodicidad en sus ciclos durante los cuales son receptivas al macho. La longitud y la frecuencia de periodos de receptividad varía entre animales silvestres y las razas domésticas.



**Figura 11.2** Una técnica apropiada para transportar conejos. Este método proporciona control a través de sujetar la piel que se encuentra justo detrás del cuello mientras se sujetan a las patas traseras. Esta técnica es utilizada para levantar conejos y sacarlos de la jaula.



**Figura 11.3** Si a un conejo se le apoya bien y se le da lugar en el cual esconda la cabeza, usualmente permanece quieto durante el transporte o la inmovilización. Este método no debe ser utilizado como método de inmovilización por que pudiera excitar al animal.



## CAPITULO DOCE

### EL GATO

Los registros históricos más antiguos indican que el gato doméstico, Felis catus ha vivido con los humanos por lo menos 5000 años. El cerebro del gato doméstico es particularmente interesante para la ciencia, parece representar una etapa de desarrollo entre los mamíferos inferiores y los primates. Por lo que ha sido extensamente estudiado tanto anatómicamente como fisiológicamente.

#### CONDUCTA

Un gato sano es un gato tranquilo, alerta e interesado en sus alrededores. Este mantiene sus orejas erectas, sus ojos son brillantes y frecuentemente ronronean cuando el manejador entra al cuarto. La mayoría pero no todos los gatos parecen divertirse cuando son mantenidos como mascotas. Ellos pueden restregarse en la mano o en las piernas del técnico para llamar su atención.

Un gato enojado o a disgusto frecuentemente raspa su espalda en la jaula torciendo su cola. Sus orejas pueden estar dobladas y sus ojos parcialmente cerrados. Este tipo de animales o en esta situación frecuentemente producen un gruñido bajo.

#### ALOJAMIENTO

Las jaulas para el alojamiento individual de los gatos usualmente son jaulas colocadas en anaqueles móviles que contienen de cuatro o seis jaulas. Cada jaula tiene una pequeña repisa con una charola y material de cama, los cuales están elevados sobre el nivel del piso de la jaula. Las jaulas de los gatos por lo regular están hechas de acero inoxidable. Es posible alojar grupos hasta de doce gatos cuando se proporciona el espacio adecuado, así como también repisas de descanso, charolas con cama y comederos.

A los gatos se les debe de colocar cama limpia y fresca diariamente. Las charolas deben de estar completamente limpias y cambiadas al menos una vez cada dos semanas. Se les debe de proporcionar agua fresca diario, los recipientes para agua deben ser limpiados a mano también a diario.

#### ALIMENTACION

La mayoría de los gatos de laboratorio se alimentan con dietas comerciales que cumplen con sus requerimientos nutricionales. Existen tres tipos de dietas comerciales para gatos: Alimentos secos (10 a 12 % de humedad), semi-húmedos (20 a 25 % de humedad) y enlatados (70 78 % de humedad). Los gatos pueden ser muy selectivos en sus alimentos por lo que se les tiene que proporcionar frescos y diariamente para mantener el apetito. La cantidad de agua que consume un gato depende del tipo de alimento que ingiere. Un gato alimentado con comida seca consume mucho más agua que un animal mantenido con una dieta semi-húmeda o alimentos enlatados. El agua

de bebida debe de estar siempre disponible. En los bioterios los gatos deben ser alimentados con comida seca y proporcionarles agua ad-libitum en recipientes abiertos.

### SUJECION E INMOVILIZACION

Los gatos se deben de sujetar de una manera diferente a como se realiza con otros animales domésticos. Los gatos son animales nerviosos que frecuentemente reaccionan negativamente hacia los extraños. El técnico en animales de laboratorio debe de aproximarse a un gato con tranquilidad, mientras le habla lenta y suavemente. Cualquier movimiento repentino o ruido puede ocasionar al animal, que éste se vuelva agresivo o cauteloso. La inmovilización adecuada del animal le proporciona apoyo y seguridad. También evita y previene que el manejador sea arañado o mordido.

Los gatos deben ser transportados dentro del bioterio en jaulas móviles. Para mover al gato de su jaula o transportarlo una distancia corta, se le coloca la palma de la mano sobre el cuello y se sujeta tanta piel como sea posible, se levanta al gato mientras simultáneamente se coloca la otra mano en las patas posteriores (Fig. 12.1). Posteriormente se desliza la mano bajo la parte posterior del animal y hacia la punta de las patas, asegurando con las manos las piernas y los dedos de las patas. Se coloca el dedo índice entre las dos patas para evitar que se les presione demasiado una contra otra. El gato debe de mantenerse en posición vertical, próximo al pecho del manejador para proporcionarle apoyo y con la cara orientada a cierta distancia del manejador. Para un transporte seguro, el gato debe ser mantenido contra uno de los brazos del cuerpo del manejador, con las patas traseras controladas por el brazo (Fig. 12.2). Para proporcionar mayor inmovilización. Las patas delanteras se sujetan con la mano. La otra mano sostiene el cuello y controla la cabeza del animal.

Debe de contarse con un par de guantes gruesos o una toalla gruesa para proteger al manejador de aquellos gatos poco colaboradores. Colocando la toalla sobre la cabeza y el cuerpo del animal, el gato frecuentemente se calma lo suficiente como para permitir el manejo. Se debe de manejar e inmovilizar lo menos posible al animal para reducir el estres.

Un gato necesita una cantidad moderada de manejo para ser colocado sobre una superficie firme, como puede ser una tabla, con la espalda hacia el manejador. Las patas traseras se sujetan con una mano y las patas delanteras con la otra. Los dedos índices son colocados entre las patas del gato para un mejor control. El antebrazo es colocado aplicando ligera presión justo por debajo de la mandíbula del gato (Fig. 12.3). Esto debe realizarse con cuidado ya que el gato puede morder. Se requiere mantener una mano libre y se pueden sujetar las patas con cinta adhesiva.

Un gato problemático puede colocarse en una bolsa de manta. Esta puede ser ajustada para sujetar el cuello permitiendo que la cabeza quede expuesta. Se le pueden colocar cierres a la bolsa para permitir el acceso a alguna parte del animal en particular. Si no

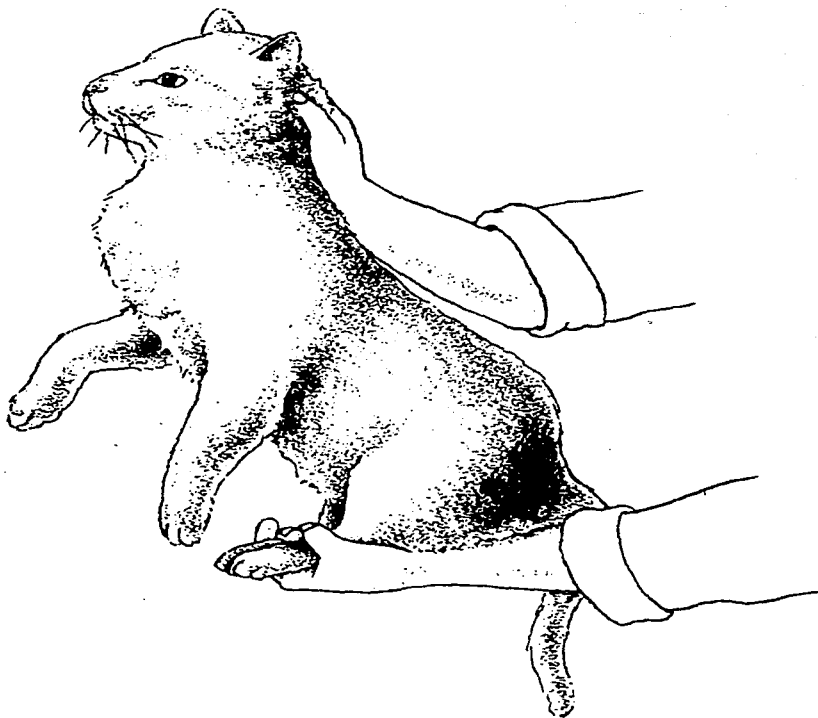
se cuenta con una bolsa de este tipo, una toalla gruesa puede enrollarse alrededor del cuerpo del gato. La última alternativa para manejar un gato intratable es el laza-gatos. Este consiste en una vara con un lazo de nudo corredizo en un extremo. El lazo es colocado alrededor de la porción superior del tórax, justo detrás de las patas delanteras y nunca alrededor del cuello.

El lazo puede ser usado únicamente en situaciones de emergencia y solo hasta que el gato ha sido tranquilizado o sometido. Cuando el uso de métodos físicos de inmovilización es inadecuado o imposible, se deben de utilizar métodos químicos (tranquilizantes).

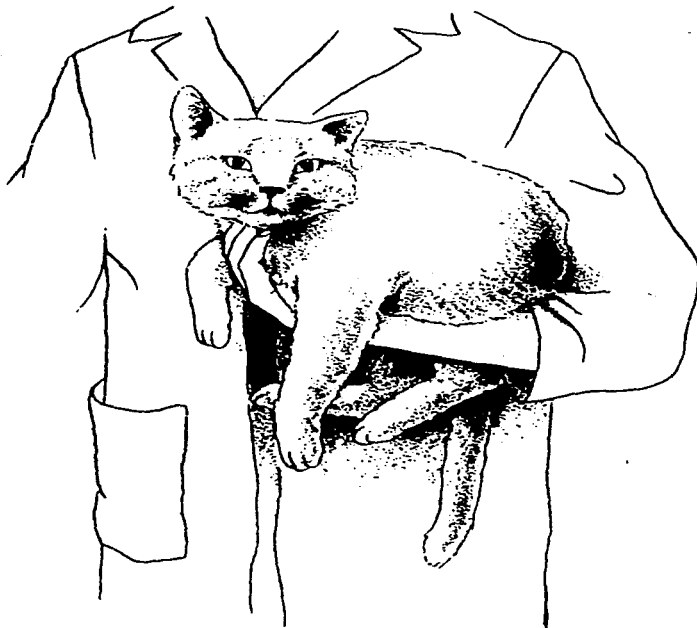
#### **SEXADO Y REPRODUCCION**

Los testículos de un gato macho se mantienen dentro de la bolsa escrotal la cual es fácilmente identificable. El pene así como el tejido circundante usualmente se contrae y no es fácil de observar. Las hembras tienen muy aparente la vulva la cual se encuentra ventral al ano.

Las gatas son poliestricas, sus períodos de estro usualmente duran de tres a seis días, aunque ellas pueden en ocasiones presentar aceptación del macho hasta por diez días si no ha ocurrido la monta. Durante el estro la hembra usualmente emite vocalizaciones. Así mismo ella puede mostrar una conducta de aceptación elevando la espalda y la cadera. Generalmente para favorecer el parto se le proporciona al animal una caja que funcionará como nido, la cual debe de tener una toalla limpia o material de cama apropiado.



**Figura 12.1** Para proporcionar mayor inmovilización, las patas traseras se sujetan con la mano, la otra mano sostiene el cuello y controla la cabeza del animal.



**Figura 12.2** Debido a que los gatos son sumamente ágiles la inmovilización requiere de un apoyo extra para sujetar al animal. La mano derecha del manejador puede ser utilizada tanto para controlar la cabeza o para realizar alguna otra actividad si el gato está tranquilo.



Figura 12.3 Algunos gatos necesitan más firmeza en la inmovilización física que para algunos experimentos en particular. Esta posición se conoce como recumbencia lateral. El gato es mantenido sobre uno de sus costados, manteniendo la espalda hacia el manejador. El dedo índice de cada mano es colocado entre las patas del gato para facilitar el control. Con el antebrazo que sostiene las patas delanteras se aplica ligera presión bajo la mandíbula del gato.

## CAPITULO TRECE

### EL PERRO

Los perros han sido utilizados para investigación experimental principalmente en fisiología, farmacología y técnicas quirúrgicas desde el siglo XVII. El nombre científico del perro doméstico es Canis familiaris. La raza beagle es el estándar como perro de laboratorio el cual es utilizado para la mayor parte de los experimentos no quirúrgicos.

#### CONDUCTA

El contacto diario del personal de investigación con el animal, parece favorecer el bienestar psicológico y fisiológico de los perros. Un perro normal, feliz y no intimidado usualmente busca la atención de su manejador. Las posturas para llamar la atención pueden ser de sumisión o de excitación. Un perro sumiso puede aproximarse al manejador arrastrándose con el pecho, con movimientos sobre sus costados, manteniendo la cabeza baja, las orejas planas y con el pecho o la mayor parte del cuerpo apoyada en el piso, la cola se encuentra entre las patas pero firme. La aproximación generalmente es con los ojos mantenidos hacia abajo. Un perro más seguro de sí mismo y un poco más excitado se aproxima de una manera más directa. La cabeza es mantenida alta, los ojos son brillantes y las orejas están alertas. Los perros generalmente ladran, El animal está completamente levantado y mantiene la cola erecta y agitándola.

Un perro enfermo o asustado frecuentemente trata de aislarse en su jaula, permanece en una esquina, por lo regular en una posición encorvada con los pies metidos debajo de su cuerpo, la cabeza y la cola aproximándose una a la otra. Usualmente no responde a los llamados, tiembla, gruñe o se lamenta.

#### ALOJAMIENTO

Un ambiente apropiado para los perros promueve su bienestar fisiológico y físico. Un buen sistema de alojamiento le proporciona el espacio suficiente para permitirle libertad de movimientos y mostrar sus posturas normales. Las actividades de un perro pueden ser suplementadas favoreciendo el que camine o haga ejercicio en áreas mayores a las de su confinamiento. Se pueden usar instalaciones al aire libre para alojarse, siempre y cuando éstas proporcionen áreas térmicas, para refrescarse o mantenerse calientes, sombra y protección contra la lluvia y vientos. Frecuentemente las instalaciones al aire libre tienen pisos sellados de cemento para facilitar su limpieza y eliminar los problemas de parasitosis. También es posible diseñar instalaciones que mantengan tanto a acceso a interiores como a exteriores permitiendo al animal conocer los beneficios de los sistemas.

Las perreras mantenidas en interiores tienen pisos sólidos y continuos, que permiten el escurrimiento de la orina y otros desechos del animal.

Estos pisos pueden estar hechos en acero inoxidable o en metales cubiertos con plástico u otro material. Los espacios entre las ranuras deben de estar lo suficientemente grandes para permitir el paso del excremento pero lo suficientemente pequeñas para evitar que los dedos y garras pudieran atorarse y lastimar al animal.

Las perreras con pisos sólidos pueden contener láminas con material absorbente (como puede ser viruta de madera) Los cuales absorben la orina y cubren el excremento. El material de cama debe de removerse todos los días y reemplazarse con material limpio. Los pisos deben ser lavados y desinfectados regularmente con un calendario bien definido. Debe evitarse el mojar al animal durante los procedimientos de limpieza.

Las cajas deben ser limpiadas y secadas diariamente antes de colocarlas de nuevo. Las jaulas deben de limpiarse al menos una vez cada dos semanas. El alimento y el agua que se queda en los comederos debe retirarse, limpiando y desinfectando el comedero todos los días. Los dispositivos de bebederos automáticos deben de chequearse diariamente para asegurar que trabajan de manera adecuada.

#### ALIMENTACION

Los perros, al igual que los gatos son carnívoros, deben de alimentarse con una dieta balanceada que contenga productos cárnicos, granos, vegetales, grasas y vitaminas. Las dietas o alimentos comerciales para perros proporcionan estos nutrientes en cantidades apropiadas. La cantidad de alimento que debe ingerir un perro depende de su tamaño, edad, estado de salud, actividad y requerimientos especiales de la investigación, así como también el que se encuentre gestante o lactante.

Los perros adultos deben de alimentarse con una cantidad medida de alimento seco una vez al día. A los perros se les debe permitir consumir su comida sobre un tiempo razonable y después retirar todo el alimento que hayan dejado. Cuando dos o más perros son alojados juntos, el técnico en animales de laboratorio debe de observar y asegurarse de que cada uno de los animales a comido la cantidad adecuada de alimento. El agua debe proporcionarse siempre ad libitum, siempre fresca y limpia. La cantidad de agua que consume un perro varía dependiendo de las características individuales del animal, así como también del tipo de dieta que consume. Los perros que se alimentan con comida seca tienden a tomar más agua que los que se alimentan con comida enlatada.



## SUJECION E INMOVILIZACION

Los perros tienen características individuales y necesitan manejarse de acuerdo a ellas. La mayor parte de los perros tiene un temperamento moderado y están dispuestos a jugar con su manejador. En ocasiones los perros tienden a ser tímidos, temerosos o presentan algún vicio en particular.

Cuando se desconoce el carácter de un perro debemos de aproximarnos lentamente y con calma, el hablarles con una voz suave y calmada ayuda a tranquilizar al animal.

Cuando el manejador alcanza con su brazo al animal, una mano debe de extenderse lentamente con la palma hacia abajo y con los dedos doblados. Acariciándolos sobre la cruz, algunas veces calma a los animales. Nunca force a un animal impredecible hacia una esquina ya que el se puede sentir atrapado. Cuando el perro está calmado y tranquilo se puede colocar una correa con un nudo corredizo alrededor de su cuello, entonces se puede jalar suavemente al perro. Paciencia y cariño son necesarios para manejar exitosamente a un perro.

Los perros nunca deben de levantarse cogiéndolos de la piel del cuello. Un manejador debe levantar un perro colocando su mano bajo el pecho y la otra bajo la cadera. También puede levantarse con los dos brazos manteniendo el costado del animal hacia uno (Fig. 13.1). Un animal vicioso o temeroso puede atacar por lo que se deben tener precauciones especiales.

Si se requiere una inmovilización física, se puede utilizar un lazaperros para manejar con seguridad al animal. Se debe colocar el lazo alrededor del cuello del animal de tal manera que permita el control de la cabeza. Una segunda persona puede coger las patas traseras del animal para tranquilizarlo o administrar un sedante. Algunos animales necesitan ser amordazados. Existen en el mercado diferentes tipos de bozales para este propósito. Un bozal simple puede hacerse con material de gasa o vendajes. Se utiliza un vendaje de 50 cm. de largo al cual se le hace un nudo central, se coloca sobre el hocico del animal anudando hacia abajo de la mandíbula, la terminación se lleva por el cuello hacia la parte posterior y por debajo de las orejas se sujeta firmemente. Esto asegura que el animal mantenga la boca cerrada con firmeza pero sin lastimarlo y difícilmente el animal puede retirarse el bozal (Fig. 13.2).

Un perro amistoso puede inmovilizarse con una inyección o con otro tipo de manipulaciones como el colocarlo sobre una superficie lisa y manteniendo su pecho hacia abajo. El manejador coloca un brazo alrededor del cuello del animal y con ello lleva la cabeza hacia su hombro. La cabeza y el cuello son sujetados firmemente en una posición segura con el brazo, mientras que el otro brazo es colocado alrededor del pecho y la mano la mantiene libre para controlar la pata delantera (Fig. 13.3). Si es necesario sujetar a un perro en recumbencia lateral (apoyando en su costado), el animal debe ser colocado sobre su costado con las patas extendidas

alejadas del manejador. El manejador cogerá las patas delanteras del animal por sobre el cuerpo de éste colocando el antebrazo por el cuello. Las patas traseras son sujetadas con la otra mano permitiendo que el antebrazo cruce la grupa del animal. La porción superior de la pierna es sujetada por uno o dos dedos de la mano que sostiene la pata delantera (Fig.13.4). También se le puede dejar libre para que un segundo manejador la sostenga mientras realiza alguna manipulación en particular. La clave para inmovilizar cualquier animal es el utilizar el mínimo de fuerza necesaria.

La inmovilización química puede ser necesaria para mantener a un perro para estudios radiográficos o para otro procedimiento de larga duración. Los tranquilizantes, los narcóticos o barbitúricos pueden utilizarse para inmovilización química. Estas drogas son administradas oralmente, intramuscular o intravenosa.

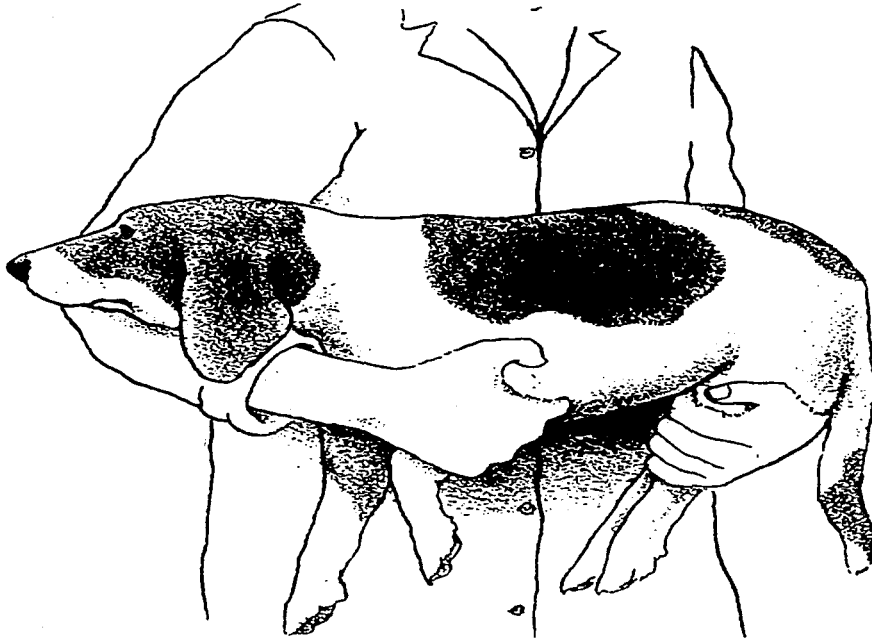
La administración de estas sustancias debe ser realizada únicamente por personal entrenado y bajo la supervisión del médico veterinario.

#### **SEXADO Y REPRODUCCIÓN**

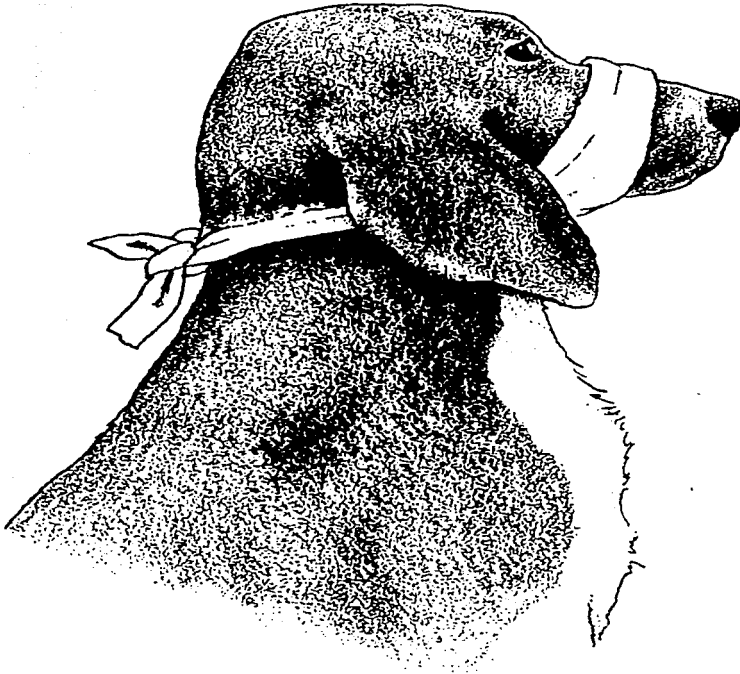
Los genitales externos de un perro macho consisten, en dos testículos contenidos en los sacos escrotales externos. El orificio externo del prepucio está localizado justo atrás de la cicatriz umbilical. Los genitales externos de la hembra consisten en una vulva muy aparente.

La hembra solo permite la monta durante el estro (calor). El inicio del estro se marca por exudado vulvar y descarga sanguinolenta de la vagina. La duración del estro es de dos a tres semanas y ocurre aproximadamente en intervalos de seis meses. La hembra es atractiva para el macho durante este período, pero usualmente permite la monta únicamente del cuarto al décimo día. La ovulación es espontánea y tiene lugar durante el inicio de la mitad del estro.

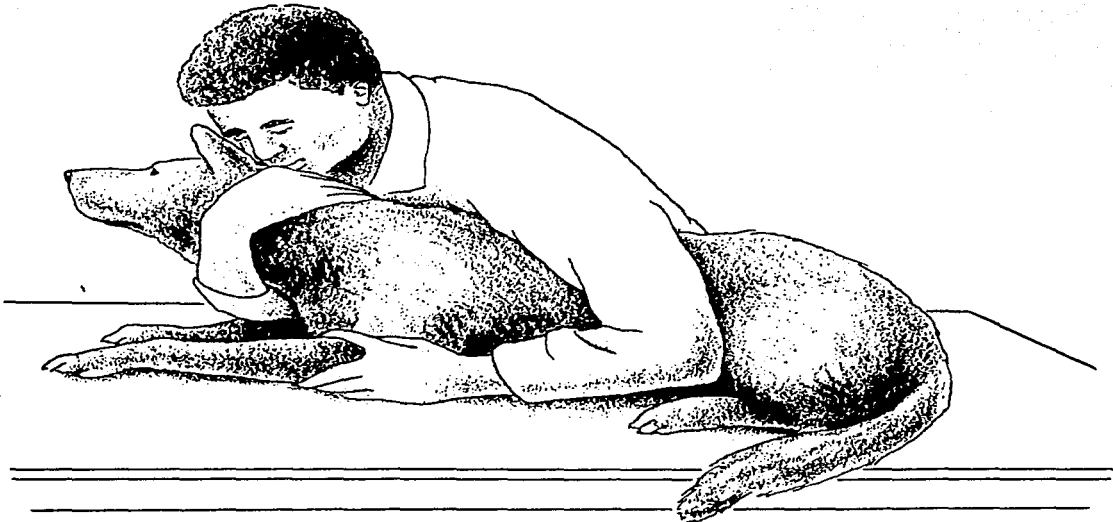
Después de una monta estéril o en ausencia de monta la hembra puede presentar pseudogestación (falso embarazo), el cual se caracteriza por desarrollo mamario y lactación. Este puede durar de 7 a 63 días.



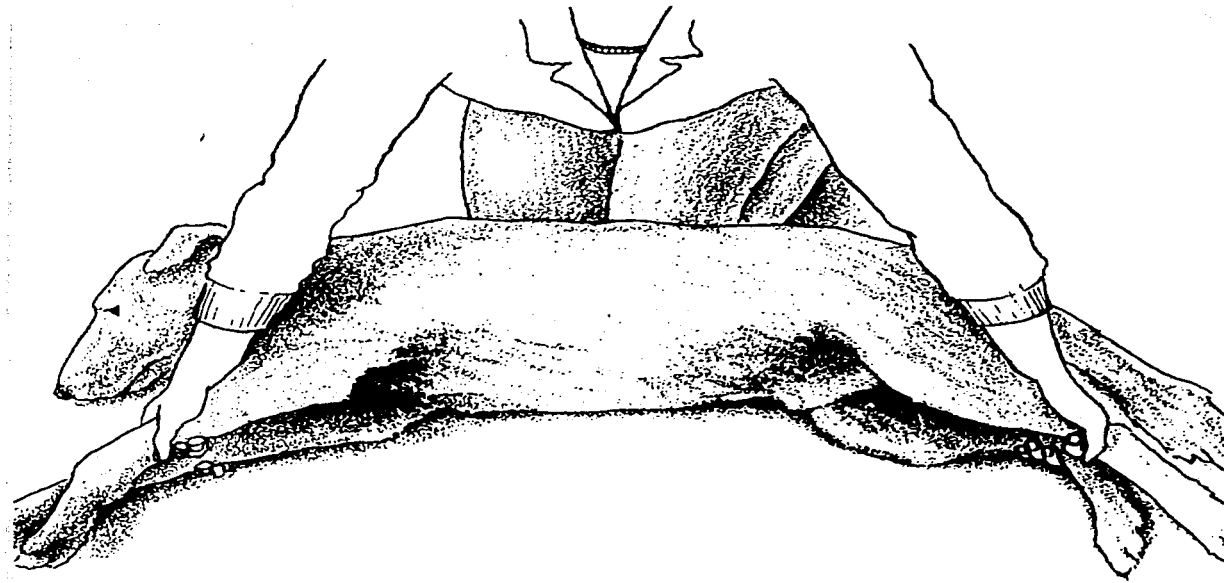
**Figura 13.1** Este es un método apropiado para levantar y mantener a un perro tranquilo. Las manos, los brazos y el cuerpo del manejador son utilizados para inmovilizar al perro. Para evitar que el manejador se dañe la espalda, debe de levantar al animal con las rodillas y no con el esfuerzo de la espalda.



**Figura 13.2** Un perro agresivo necesita ser amordazado para la protección de otros animales y del personal técnico. Usando como material vendas de gasa podemos hacer un bozal temporal. Se coloca alrededor del hocico del animal anudando abajo de la mandíbula, la terminación se lleva por el cuello hacia la parte posterior y por debajo de las orejas se sujeta fuertemente.



**Figura 13.3** Forma apropiada de inmovilizar un canino para inyección intravenosa. Mientras se sostiene al perro contra la mesa, el técnico presiona la vena del brazo de tal manera que una segunda persona pueda identificarla fácilmente e inyectar.



**Figura 13.4** Técnica apropiada para inmovilizar a un perro en recumbencia lateral. Cada pata es individualmente sujeta y la cabeza del animal y las escápulas son presionadas hacia abajo con el brazo del técnico. Si el perro está siendo sostenido sobre el piso las rodillas del técnico pueden ser utilizadas para un mejor control.

## CAPITULO CATORCE

### PRIMATES NO-HUMANOS

Todos los monos pertenecen a un grupo de mamíferos que tienen el pulgar opuesto para agarrar. A todos ellos en conjunto se les denomina primates no-humanos. Los científicos han clasificado más de 250 especies de primates no-humanos. Existen dos tipos principales de primates: Los antropoides, los cuales incluyen a los humanos, simios y monos; y los prosimios, los cuales incluyen a todos los otros primates.

Las especies de monos de Africa y de Asia frecuentemente se les denomina monos del Viejo Mundo. Se incluyen entre estos al mono rhesus y al mono cynomolgus. A las especies de monos que se encuentran en Centro América y Sudamérica se les denomina monos del Nuevo Mundo. Entre ellos, el más conocido es el mono ardilla y las marmosetas.

Los monos del Viejo Mundo de Africa y Asia se caracterizan por tener los nostrilos muy próximos uno al otro. Las aperturas de sus nostrilos se dirigen hacia abajo. Más que hacia el frente o a los lados. La mayor parte de los monos de Viejo Mundo tienen sacos en las mejillas formados por pliegues de la piel. Estos pueden ser estirados para almacenar considerables cantidades de comida, la cual puede ser transportada de un lugar a otro para comersela con calma. Algunas especies de monos del Viejo Mundo tienen parches callosos en el trasero. Los monos del Nuevo Mundo no tienen sacos en las mejillas o parches callosos en el trasero. Los monos del Nuevo Mundo tienen una larga cola la cual usan para ayudarse a trepar. Algunos tienen una cola prensil con la cual pueden sujetarse y colgarse de las ramas de los árboles. Sus nostrilos se abren hacia el frente o hacia los lados.

Debido a su similitud con los humanos los primates no-humanos son utilizados en un amplio rango de estudios científicos. El primer paso que debe ser considerado para determinar la salud de un primate no-humano para investigación, protegiendo así a los humanos que están expuestos a ellos, se inicia con una cuidadosa elección de la fuente de origen. Los primates no-humanos usualmente son comprados como animales condicionados, los cuales han sido capturados en la vida silvestre pero mantenidos en cautiverio. Una pequeña parte de los primates no-humanos utilizados anualmente en la investigación en los Estados Unidos se reproducen en ese mismo país.

#### CONDUCTA

Los primates no humanos son animales sociables que generalmente se benefician del contacto y la comunicación con otros de la misma especie.

Existe mucha literatura disponible acerca de las interacciones de los primates no-humanos durante su acicalamiento uno con otro.

El acicalamiento también forma parte de los ritos de reproducción.

Los primates como animales de laboratorio usualmente se mantienen en jaulas individuales y no pueden realizar el proceso de acicalamiento, que se ve en la vida silvestre o en las colonias de condiciones semi-naturales de reproducción.

Los primates no-humanos son animales inquisitivos que cogen cualquier cosa que está a su alcance. El técnico de animales de laboratorio debe ser muy cuidadoso para mantener su pluma y otros pequeños objetos que lleve, dado que ellos pueden ser cogidos por el animal en cuanto se presente la oportunidad.

Los monos muestran características de un lenguaje corporal y patrones de conducta peculiares para su especie. Mientras los patrones de conducta son más comunes hacia todas las especies, cada especie tiene su propia manera de comunicarse. Un técnico de animales de laboratorio que observa atentamente puede llegar a tener la habilidad de conocer el estado mental y físico de un animal a través del lenguaje corporal y su relación con los actos o conductas sexuales, de agresión, de marcaje territorial y de interacción en el grupo. Se han realizado esfuerzos en la mayor parte de los bioterios para enriquecer el ambiente de estas especies tan complejas.

Los primates no humanos usualmente se les observa sentados sobre su trasero o acostados sobre una rama para descansar, con sus cuatro patas colgando. En exteriores, a ellos les gusta tomar una gran cantidad de posiciones de relajamiento a la luz del sol. Los primates no-humanos duermen sentados con la cabeza erecta o descansando sobre uno de sus hombros. Ellos caminan en forma cuadrúpeda (sobre las cuatro patas) o en forma biopedal (sobre sus dos patas posteriores).

Algunos primates no-humanos tienen rituales de apareamiento en los cuales el macho parece abusar físicamente de la hembra. Este ritual únicamente demuestra la dominancia del macho y usualmente termina cuando la hembra adopta una actitud sumisa. Esto generalmente no produce ningún daño en la hembra.

#### **ALOJAMIENTO**

Los monos pueden agruparse o mantenerse en forma individual. Debido a su curiosidad innata, la habilidad de manipular objetos, estirarse y en especial las características de su dieta, los primates no-humanos tienen requerimientos de cuidados muy especiales. Los desperdicios de comida y los desechos fecales se deben de lavar y drenar de las jaulas cuando menos dos veces al día. Los primates no-humanos juegan con su excremento y comida. Ellos pueden arrojar, salpicar la comida sobre el piso o embarrarla en diferentes partes de la jaula o confinamiento. Mantener el cuarto limpio puede ser una de las actividades que consuma más tiempo en comparación con otras especies. La saliva del mono es grasienta y puede ocasionar que el piso se haga resbaloso. El técnico en animales de laboratorio debe de estar muy consciente de las condiciones de seguridad cuando cuida a primates no-humanos. Se



debe de utilizar el detergente y desinfectante apropiado para mantener a los animales libres de desechos, olores y otros contaminantes microbiológicos.

Una jaula para primates no-humanos debe llenar dos criterios importantes:

1.- Una jaula debe estar hecha de un material lo suficientemente fuerte para que resista los empujones y movimientos del mono por alejarla o morderla. El seguro de la puerta debe de ser lo suficientemente confiable para evitar el escape, preferentemente con un pasador y una combinación de candado.

2.- Las jaulas deben de satisfacer los requerimientos de experimentación y de cuidados necesarios. Una jaula con pared de fondo movable por ejemplo proporciona una fase de inmovilización del animal para la obtención de muestras de sangre, administración de medicamentos u otras manipulaciones (Fig. 14.1).

Las jaulas deben ser lavadas y desinfectadas dos veces a la semana. Por lo tanto es esencial contar con un sistema de transferencia de jaulas seguro que permita movilizar a estos fuertes y alertas animales.

Sin importar su origen, todos los primates que ingresan al bioterio deben de separarse de los animales que ya se encuentran en él. En forma ideal, estos animales deben ser mantenidos en grupos de no más de 6 a 10 animales por cuarto. Esto reduce la posibilidad de transmisión de enfermedades y la posible pérdida de todos los animales de la colonia. Los procedimientos de cuarentena deben de seguir una rutina establecida. Cada animal debe de ser asignado con un número y se debe de abrir un registro médico. Los animales deben de ser observados buscando signos de enfermedad; los labios y la mucosa oral deben de examinarse cuidadosamente buscando úlceras típicas de una infección activa por herpes virus. Los animales deben de ser vacunados contra la tuberculosis, realizarles pruebas para patógenos entéricos (parásitos) y recibir un tratamiento terapeuto profiláctico el cual incluye polvos de baja toxicidad para el control de parásitos externos. Los periodos de cuarentena deben de mantener a los animales de 40 a 60 días. Se recomienda que los animales que se van a mantener en la colonia por largos periodos, pasen a un área de acondicionamiento restringida por 90 días más.

#### ALIMENTACION

A menos que el protocolo de experimentación requiera de un alimento especial, la mayor parte de los bioterios utilizan alimento especial para monos con cantidad extra de vitamina C, la cual es esencial para la salud de los animales.

El alimento de un primate del Nuevo Mundo debe contener una adecuada cantidad de vitamina C y vitamina D3. Debido a que la vitamina C se deteriora rápidamente, los alimentos de más de 90 días después de preparados no deben de ser utilizados o es posible que

se presente escorbuto.

Los primates de laboratorio sanos, consumen aproximadamente el 4% de su peso corporal en alimento diario. La cantidad diaria de consumo de alimento debe repartirse en dos o tres porciones iguales a través del día, esto es, por que los monos tienen una tendencia a jugar y desechar el alimento. Frecuentemente, los alimentos comerciales o dietas comerciales son humedecidas en el agua, para facilitar la alimentación de los monos pequeños. La dieta puede ser suplementada con manzanas, naranjas o plátanos. Los monos del Nuevo Mundo generalmente son suplementados con alimentos naturales como pueden ser frutas y nueces. Las nueces deben ser almacenadas en contenedores secos y frescos, debido a que pequeñas cantidades de humedad pueden afectarlas y favorecer la formación de toxinas letales.

El agua fresca siempre debe de estar disponible. Cuando se utilizan dispositivos automáticos para proporcionar el agua, se debe de checar diariamente tubos, bebederos u otros equipos, así como también tenerlos en programas de desinfección regular. Los primates no-humanos son inteligentes, curiosos y pueden aprender a obtener su agua con poco o sin entrenamiento. Ellos necesitan que se les muestre algunas veces donde están los tubos de agua. Los animales mantenidos en grupos aprenden unos de los otros por la observación. Los animales jóvenes y adultos mantenidos en forma individual, se les puede entrenar, ajustando una válvula automática de agua para que gotee ligeramente. Una vez que los animales empiezan a utilizarla correctamente, la válvula debe de ajustarse adecuadamente otra vez. Cuando se ha criado artificialmente a bebés de mono, usualmente se empieza con una botella o con un tubo y después conforme van creciendo se les transfiere a jaulas donde se cuenta con dispositivos automáticos.

#### **SUJECION E INMOVILIZACION**

El personal que trabaja con primates no-humanos debe de pensar que los procedimientos que utilice, eviten la transmisión de enfermedades entre los animales, así como también al personal. El personal siempre debe de utilizar máscaras, protectores de ojos y cara, guantes, cofia y protección en los zapatos. El personal debe siempre de bañarse y cambiarse completamente de ropas incluyendo los zapatos, antes de entrar a otras colonias o áreas con primates.

Los primates no-humanos pueden dañar al personal seriamente si no se utiliza el método de inmovilización adecuado, es más, las especies pequeñas pueden requerir un manejo más gentil. Aún aquellos primates no-humanos juguetones y amigables deben de ser manejados con cautela. Ellos deben de manejarse únicamente por técnicos entrenados, utilizando sustancias químicas o equipo como pueden ser, guantes gruesos o el bastón y el collar (Fig. 14.2). El riesgo de adquirir una enfermedad zoonótica transmitida por una mordedura o rasguño es mínimo, si se utiliza el método de restricción apropiado, el cual puede ser físico, químico o la

combinación de ambos. Los machos adultos de las especies mayores pueden ser menos peligrosos si se les recortan o remueven los dientes caninos.

La sujeción física puede ser adecuada para los animales que pesan de siete a nueve kilogramos. Los manejadores deben de utilizar siempre guantes gruesos de doble capa y con largas cubiertas en los brazos. Para manejar manualmente a un primate no-humano, los brazos del animal son mantenidos hacia su espalda con una mano y sus patas son firmemente sujetadas con la otra mano (Fig. 14.3). La persona que sujeta debe de utilizar el procedimiento correctamente, sobreponerse al temor, observar las medidas de seguridad, usar buenas medidas de higiene y siempre utilizar ropa protectora.

La sujeción por métodos químicos, está acompañada por la inmovilización del animal en una jaula con pared movable y la inyección de una droga en el brazo o en la pierna a través de la puerta de la jaula. El clorhidrato de ketamina es una droga comúnmente utilizada para la sujeción e inmovilización de primates.

### SEXADO Y REPRODUCCION

La determinación del sexo de los primates no-humanos se realiza por la observación de los genitales externos. Los machos tienen un pene penduloso externamente visible, con los testículos mantenidos en sus sacos escrotales. Las hembras tienen vulva. El espacio anogenital es mucho menor en las hembras que en los machos. Los machos usualmente son grandes y mucho más agresivos que las hembras.

Existen varios métodos de reproducción en las colonias para los primates no-humanos. La selección del programa de reproducción depende de la especie y del propósito para el cual se están cruzando los animales. El sistema monogámico y de harem son los más comúnmente utilizados cuando se desea implementar la producción. Cuando se utiliza el sistema de monta controlada los animales son manejados en forma individual. El ciclo de la hembra es vigilado. La hembra del primate no-humano tiene un ciclo menstrual con períodos similares a los de los humanos. La hembra es colocada en una jaula para montas al tiempo estimado de ovulación (estro, o justo antes). La monta controlada resulta en una hembra gestante con un feto en el cual se conoce la edad gestacional.

Se debe realizar un muestreo vaginal con isopo diariamente para determinar la etapa del estro en los primates no-humanos. La hembra del mono rhesus desarrolla un color rojizo y terso de la piel de la cara, denominada "piel sexual", así como crecimiento del trasero durante el ciclo o durante el período estral. En las hembras de los baboons, los mandriles y los chimpancés, la piel sexual también se vuelve turgente y tiene sudoración durante el ciclo estral.

La mayoría de los monos da a luz un solo bebé por parto, usualmente durante la noche. La madre generalmente corta el cordón umbilical y acerca a la cría hacia ella para mantenerla caliente y protegida. La madre puede o no comer la placenta y las membranas fetales.

La mayor parte de las hembras son buenas madres y no requieren mucha ayuda o ninguna para mantener a sus crías. Ocasionalmente algunas madres abandonan o descuidan a sus crías, es necesario en estos casos separar al infante y criarlo artificialmente.

El instinto materno de algunas hembras es tan grande que aunque el infante esté muerto ellas lo siguen cuidando. Se conoce bien que algunas hembras adoptan infantes abandonados o incluso los roban de otra madre. Estos actos complican el mantenimiento de registros de reproducción exactos.

#### **OTRAS ESPECIES**

Las especies descritas en detalle en este capítulo constituyen una gran mayoría de los animales utilizados en investigación biomédica. Sin embargo es posible que algunos técnicos de animales de laboratorio requieran más información para manejar animales como pollos u otras especies de granja. Por esta razón la información básica de estas especies se presenta en la tabla 14.2.



Figura 14.1 Para inmovilizar a un primate no-humano, para aplicarle una inyección, la manivela localizada en la parte superior de ésta jaula de contención se mueve lentamente, moviendo la pared sólida de atrás hacia adelante hasta que el animal es sujetado firmemente.



Figura 14.2 La técnica del bastón y collar puede inmovilizar a un primate ya entrenado, sin el uso de anestesia. Los monos permanentemente utilizan un collar, el cual se puede sujetar con el bastón como una correa y convertirse en un instrumento de restricción.



Figura 14.3 Una técnica manual apropiada para sujetar a un primate no-humano pequeño. El técnico en animales de laboratorio debe de utilizar ropa apropiada y el animal debe ser sostenido con firmeza pero a la vez con gentileza.

Tabla 14.1 Características de las especies y datos reproductivos.

	Ratón	Rata	Hámster	Cobayo
Temperatura corporal	37°C 99°F	37°C 99°F	37°C 99.3°F	38°C 101°F
Latido cardíaco	600 (328-780)	328 (250-600)	450 (250-600)	230-320
Peso: macho adulto	25-40g	400g	80-110g	500-800g
Peso: hembra adulta	25-40g	300g	80-110g	500-800g
Peso: recién nacido	1g	5g	2g	80g
Consumo de agua	5ml	40ml	12ml	70ml
Consumo de alimento	5g	15-20g	10g	70g
Madurez sexual	7 semanas	13 semanas	7 semanas	12 semanas
Frecuencia del ciclo estral	4-5 días	5 días	4 días	16-18 días
Duración del estro	10 hrs.	13-15 hrs	20 hrs.	6-11 hrs.
Tiempo de ovulación	2-3hrs. desp. del estro (espontaneo)	8-10hrs. desp. del estro (espontaneo)	8-12hrs desp. del estro (espontaneo)	10hrs. desp del estro (espontaneo)
Período de Gestación	19-21 días	20-22 días	15-18 días	60-65 días
Tamaño promedio de camada	6-12	7-11	5-10	2-4



**Tabla 14.1** Características de las especies y datos reproductivos (cont.)

	Ratón	Rata	Hámster	Cobayo
Inicio a comer alimento sólido	12-14 días	10-12 días	8 días	4-6 días
Edad de destete	21 días	21 días	21 días	18-24 días
Vida reproductiva	8 meses	1.5 años	1 año	2-4 años
Promedio de vida	2.5 años	3 años	2 años	6 años
Razas comunes				
Cepas consanguineas	Swiss	Wistar	Syrian	Dunkin Hartley
No consanguineas	Swiss- Webster	Sprague Dawley	Chinese	Shorthair
	CF-1	Long-Evans		
	BALE/c	Fischer 344		Strain 13
	C3H	Lewis		Strain 2
	C57B16	Buffalo		
	CBA	SHR		

Tabla 14.1 Características de las especies y datos reproductivos

	Conejo	Gato	Perro	Primate (rhesus)
Temperatura corporal	38.3°C	38.6°C	39°C	38.4°C
Latido cardíaco	205 (123-304)	120 (110-140)	120 (100-130)	120-180
Peso: macho adulto	4-6 Kg	4-7 Kg	6-35 Kg	6-11 Kg
Peso: hembra adulto	4-6 Kg	4-7 Kg	6-35 Kg	6-11 Kg
Peso: recién nacido	40g	125g	300-500g	550g
Consumo de agua	150ml	100-200ml	200-600ml	400-900ml
Consumo de alimento	130g	100-200g	0.25-1.2Kg	400-600g
Madurez sexual	6-9 meses	10-15 meses	10-14 meses	4-5 años
Frecuencia del ciclo estral	Inducido	15-21 días	6-7 meses	28 días
Duración del estro	Continuo	3-6 días	7-9 días	2-3 días
Tiempo de ovulación	10-11hrs post-coito (inducido)	25-27hrs post-coito (inducido)	1-3 días después del estro (espontaneo)	11-14 días después de menstruación (espontaneo)
Período de gestación	29-35 días	63 días	58-67 días	150-175 días
Tamaño promedio de la camada	4-10	3-8	4-8	1

Tabla 14.1 Características de las especies y datos reproductivos (cont.)				
	Conejo	Gato	perro	Primate (Rhesus)
Inicio a comer alimento sólido	21 días	4-6 sem.	3-4 sem.	3-5 sem.
Edad de destete	4 sem.	6-7 sem.	6-8 sem.	12-27 meses
vida reproductiva	3 años	5-8 años	6-14 años	15+ años
Promedio de vida	6 años	12-16 años	12-14 años	20-30 años
				Esp. Nvo. Mundo
Razas comunes	Nueva Zelanda blanco	Doméstico pelo corto	Beagle	Macaco rhesus
	Holandés	Persa	Labrador Retriever	Macaco cynomolgus
	Gigante de Flandes	Siamés	Fox Hound	Mono verde africano
			Criollo	Esp. Vjo. Mundo
				Mono Ardilla
				Marmoset

Tabla 14.2 Características de animales de granja.

	Cerdo	Ovinos	Caprinos	Pollos
Identificación permanente	Perforación de orejas, aretes y tatuaje	Arete, tatuaje	Arete, tatuaje	Bandas en patas y alas
Razas comunes	Razas domésticas Yorkshire Landrace Durok Cepas miniatura Yucatán Sinclair	Razas de lana Merino Cheviot Razas de carne Dor set Suffolk South down	Razas lecheras Nubia Alpina Saanen Razas especializ. Angora Pigmea	Razas ponedoras White leghorn Razas de carne Rhode Island
Determinación del sexo	Genitales externos	Genitales externos	Genitales externos	Caracter. secundarias
Nombres comunes	Verraco Marrano	Carnero Oveja	Cabrió Cabra	Gallo Gallina

## MEDIO AMBIENTE, EQUIPO, E HIGIENE

El proporcionar un medio ambiente que es favorable para la salud animal, un trabajo placentero, criar y mantener los animales para investigación, es una de las responsabilidades de todos los empleados en el bioterio.

La responsabilidad por la limpieza personal y equipo de trabajo promueve este tipo de ambiente. Así mismo la familiarización con las características del diseño, del equipo y del edificio en sí, son esenciales para desarrollar adecuadamente un programa.

Esta unidad introduce los criterios ambientales para el manejo del aire, desinfección, higiene del personal y medidas de seguridad, las cuales son establecidas en aquellas instituciones que llevan un buen desarrollo de la investigación. También se introducen varias piezas de equipo que es común encontrar por el técnico en un bioterio. La información sobre medidas de seguridad y problemas potencialmente peligrosos también se incluyen.

### CAPITULO QUINCE

#### EL AMBIENTE DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO

El laboratorio generalmente se localiza en un edificio o en el ala de un edificio que esta separado de otros laboratorios u oficinas. Estas instalaciones usualmente consisten de cuartos para animales, áreas de lavado de cajas, oficinas, lockers y regaderas, áreas de almacenamiento, áreas para cirugía y otros cuartos relacionados. Las condiciones ambientales como la temperatura, la humedad, el ruido y el intercambio de aire son regulados y evaluados apropiadamente y en forma consistente. Es importante mantener en los cuartos y en las cajas un ambiente constante para favorecer el buen desarrollo de la investigación científica.

##### LOS CUARTOS DE LOS ANIMALES

La temperatura, la humedad, la ventilación, la intensidad luminosa y su duración, el ruido y otras variables en los cuartos de los animales directamente afectan el ambiente de la caja del animal. El estado o la situación de éste ambiente tiene un efecto directo sobre la conducta de los animales, la salud y su fisiología. Esto por lo tanto tiene un efecto sobre los datos experimentales. El control de las variables experimentales asegura a los animales de laboratorio condiciones estables de vida, necesarias para el buen desarrollo de la investigación experimental. Las condiciones de vida (ambientales) que requieren algunos animales pueden ser no necesariamente confortables para el investigador o para el técnico en animales de laboratorio. Sin embargo, el confort del animal y las condiciones experimentales deben de prevalecer.

La Guía para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio de los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos proporciona una tabla de temperaturas recomendables y de niveles de humedad para las especies más comunes de animales de laboratorio (Tabla 15.1).

TABLA 15.1 Humedad Relativa y Temperatura de Foco Recomendada para animales de laboratorio comunes.			
Animal	Humedad	Temperatura de Foco.a	
	Relativa (%)a	°C	°F
Ratón	40-70	18-26	64.6-78.8
Rata	40-70	18-26	64.6-78.8
Hámster	40-70	18-26	64.6-78.8
Cobayo	40-70	18-26	64.6-78.8
Conejo	40-60	16-21	60.8-69.8
Gato	30-70	18-29	64.4-84.2
Perro	30-70	18-29	64.4-84.2.b
Primate			
no-humano	30-70.c	18-29	64.4-84.2
pollos	45-70	16-27	60.8-80.6.d

a. From ILAR, 1965, 1966, 1973a, 1977a,b, 1980.

b. Temperaturas de 27-29 °C (80.6-84.2 °F) recomendadas en recuperación de post-operatorio y parideros (ILAR, 1973a).

c. 60-65% es el rango recomendado para marmosetas, mono búho y algunas otras especies (ILAR, 1973b).

d. recomendaciones para pollos de 6 semanas de edad o más. Temperaturas altas son requeridas para la crianza de polluelos.

### **Temperatura**

Un cuarto que es demasiado caliente o demasiado frío puede inducir estrés en los animales. Un cuarto de reproducción de roedores por ejemplo debe de mantenerse alrededor de 22°C para mantener a los neonatos (animales recién nacidos). Si la temperatura excede 26°C, los ratones adultos pueden sufrir estrés calórico. Otras especies, como los conejos y los perros se adaptan más rápidamente a la temperatura que es menor a los 22°C.

### **Humedad**

Mientras que la mayor parte de los animales de laboratorio pueden tolerar niveles relativos de humedad de 30-70%, Los extremos de este rango pueden ocasionar problemas a los animales. Un rango mucho más aceptable para las especies de laboratorio es de 45 a 55%. La baja humedad relativa está relacionada a una enfermedad llamada cola anillada en las ratas y puede producir problemas respiratorios en ciertas especies de animales de laboratorio.

### **Ventilación**

La apropiada ventilación, o intercambio de aire, ayuda a eliminar olores nocivos como los del amoníaco, un producto que se produce de la ruptura de la orina por las bacterias en el excremento. Un adecuado intercambio de aire también ayuda a reducir el número de microorganismos suspendidos en el aire y mantiene la temperatura deseada así como la humedad. La Guía de los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos recomienda la ventilación por cuarto con un rango de 10 a 15 cambios por hora con el 100% de recambio de aire fresco.

Un cuarto ventilado puede estar bajo presión positiva o negativa con respecto de las áreas que lo rodean. La presión positiva en los cuartos se mantiene a mayor presión que en los cuartos que lo rodean. La apertura de una puerta en un cuarto con presión positiva ocasiona que el aire del cuarto fluya hacia los pasillos ayudando a prevenir que entren contaminantes defuera hacia el cuarto. Los cuartos de animales convencionales, áreas quirúrgicas y cuartos con barrera usualmente se mantienen bajo presión positiva.

Los cuartos con presión negativa se mantienen a una presión más baja que la de los cuartos que la rodean. La apertura de una puerta con presión negativa ocasiona que el aire del pasillo o del corredor fluya hacia el interior del cuarto, entonces ayuda a evitar que los contaminantes suspendidos en el aire escapen. Los cuartos de cuarentena o de acondicionamiento para animales usualmente se mantienen bajo presión negativa. Los cuartos especiales diseñados para retener agentes infecciosos también trabajan bajo presión negativa. El técnico en animales de laboratorio debe de ser capaz de checar las presiones en el bioterio a través de vigilar los manómetros u otras agujas de presión. Un olor fuerte o persistente en el cuarto debe de reportarse inmediatamente al supervisor. Estos tipos de olores reflejan cuidados inapropiados de crianza y mala ventilación.

### **Illuminación**

La iluminación debe de distribuirse uniformemente y ser lo suficientemente brillante para permitir que el técnico en animales de laboratorio vea a los animales y desarrolle adecuadamente su trabajo. El cambio o los cambios en la iluminación usualmente estresan a los animales. El técnico en animales de laboratorio debe de recordar apagar o encender las luces frecuentemente para revisar que los controles de tiempo automático funcionen. Largos períodos de exposición a luz excesivamente brillante puede ocasionar problemas, especialmente para los animales albinos, los cuales son extremadamente sensibles en sus ojos a la luz. Incluso si los problemas se corrigen rápidamente, esto puede destruir un procedimiento experimental, debido a que puede alterar los datos fisiológicos en respuesta al estrés más que las manipulaciones experimentales. Algunas investigaciones en particular requieren que los ciclos luz-obscuridad se mantengan estrictamente en los cuartos. Debido a que las variaciones naturales de la luz pueden interferir con los controles de iluminación, un bioterio que tiene cuartos para animales bien diseñados, no tiene ventanas. Muchos bioterios tienen bajos niveles de iluminación para mantener a los animales, e incrementan la iluminación únicamente durante las horas de limpieza y mantenimiento.

### **Ruido**

Es imposible la eliminación total del ruido en un bioterio, pero su reducción ayuda a evitar el estrés en los animales. Algunos roedores, gatos, cobayos y conejos reaccionan negativamente al ruido. Los conejos por ejemplo, Pueden saltar y dañarse seriamente a sí mismos y los roedores pueden detener la reproducción. La mayoría de los animales muestra alteraciones en sus niveles hormonales en respuesta a ruidos excesivos. Cualquiera que trabaje en bioterios debe evitar hacer ruidos fuertes como azotar o golpear puertas. En algunas ocasiones el investigador puede requerir que un radio se toque para proporcionar un bajo nivel de ruido de fondo. Esto puede reducir la respuesta a ruidos sorpresivos en el cuarto. Hablar con tono suave puede ayudar a que los animales se calmen. Los animales deben alojarse en cuartos fuera o alejados de animales ruidosos, como son los perros o los primates no-humanos, así como también de las actividades de lavado de cajas, carga y descarga de cajas y otras áreas con mucho movimiento.

### **Construcción de los Cuartos para Animales**

Lo ideal de un cuarto para animales es que sea fácil de limpiar. Que no tenga superficies resbalosas, que los pisos sean a prueba de encharcamiento y con drenajes cubiertos que eviten la contaminación proveniente de estos. Las paredes deben de estar hechas usualmente de bloques de concreto y selladas, así como también a prueba de agua y fácil limpieza. Las superficies deben estar libres de parásitos. El cuarto de animales ideal tiene un techo a prueba de humedad con apagadores fijos y sellados.



Las puertas deben cerrarse automáticamente, con cerrojo, sin asas y tener una ventana para ver al interior. Las dimensiones recomendables de una puerta son de un mínimo de 1.07 m de ancho por 2.13 m de alto.

#### **Cuartos con Barreras**

Los cuartos para mantener animales bajo barreras son mucho más sofisticados que los cuartos para animales convencionales. Su diseño evita la entrada o liberación de patógenos potenciales (Fig. 15.1). Los animales alojados en cuartos con barreras frecuentemente son libres de patógenos específicos (SPF) o de flora definida (DF). Los animales DF son animales que intencionalmente se les ha asociado con un tipo o especies de microorganismos en especial. Ellos deben de ser vigilados frecuentemente para asegurar que no sean contaminados con microorganismos indeseados.

Los cuartos con barrera tienen un diseño estándar o ciertas características comunes a los cuartos convencionales, pero tienen un sistema de aire filtrado. El aire pasa a través de filtros especiales (HEPA) los cuales remueven las partículas que acarrea el aire o microorganismos indeseables. Únicamente equipos o suministros desinfectados o estériles pueden penetrar a los cuartos con barrera. El personal debe seguir exactamente los procedimientos marcados en el protocolo para evitar que la barrera se rompa y favorecer la entrada de contaminantes. Estos procedimientos pueden incluir regaderas, cambio de ropa y el uso de equipo protector especial.

#### **CORREDORES Y CIRCUITOS DE TRAFICO**

Debido a que los corredores son áreas de intenso tráfico, se requiere que tengan una construcción durable. Se deben de colocar protectores en las paredes y en las esquinas para evitar que la superficie se dañe o se destruya. Se recomienda que los corredores o pasillos deben de tener un ancho mínimo de 2.10 m para prevenir el paso de equipo voluminoso. Al final de los pasillos se debe contar con puertas dobles con cierre de aire que reduzcan el ruido sobre todo en las áreas de más concurrencia.

Algunos bioterios convencionales y con barreras utilizan un corredor limpio y un corredor sucio más que un simple corredor para tener acceso a los animales. En el sistema de corredor limpio y corredor sucio (Fig. 15.1), cada cuarto de animales tiene dos puertas. Uno es por el lado del corredor limpio por el cual se toma el equipo de suministros. El segundo permite el acceso al corredor sucio y se utiliza para retirar los suministros ya usados, así como los desechos. Este sistema ayuda a prevenir que artículos sucios entren en contacto y contaminen las áreas limpias. En un sistema de barreras estricto todo el personal debe entrar a los cuartos por el sistema limpio y salir por el lado sucio. Para que este sistema de trabajo sea exitoso, todo el personal debe de seguir minuciosamente las instrucciones y las especificaciones del diseño.

### SEGURIDAD DEL BIOTERIO

La investigación con animales es muy cara y consume una gran cantidad de tiempo. Un proyecto puede involucrar años de trabajo y esfuerzo continuo de varias personas. El vandalismo y el robo son algunos de los factores que pueden costar muchísimo a la investigación. Puede ocasionar la destrucción de años de esfuerzo y la pérdida inútil de muchas vidas de animales.

Todos los bioterio tienen alguna forma de seguridad. La forma más simple se basa en el uso de candados en las puertas exteriores. Los sistemas más complejos pueden utilizar tarjetas de acceso computarizadas, las cuales controlan incluso el acceso a cada uno de los cuartos en forma independiente.

El técnico en animales de laboratorio debe estar preparado y conocer las medidas de seguridad que se utilizan en su bioterio y así constantemente actuar para mantener éstos criterios de seguridad. Una vez que abre la puerta de seguridad él debe de chequear doblemente que sean nuevamente colocados los candados o seguros. Las claves, tarjetas de acceso o combinación de las puertas nunca deben dársele a personal no autorizado. Se debe llevar una vigilancia constante y registro de cualquier problema que atente contra la seguridad.

## SISTEMA DE BARRERA

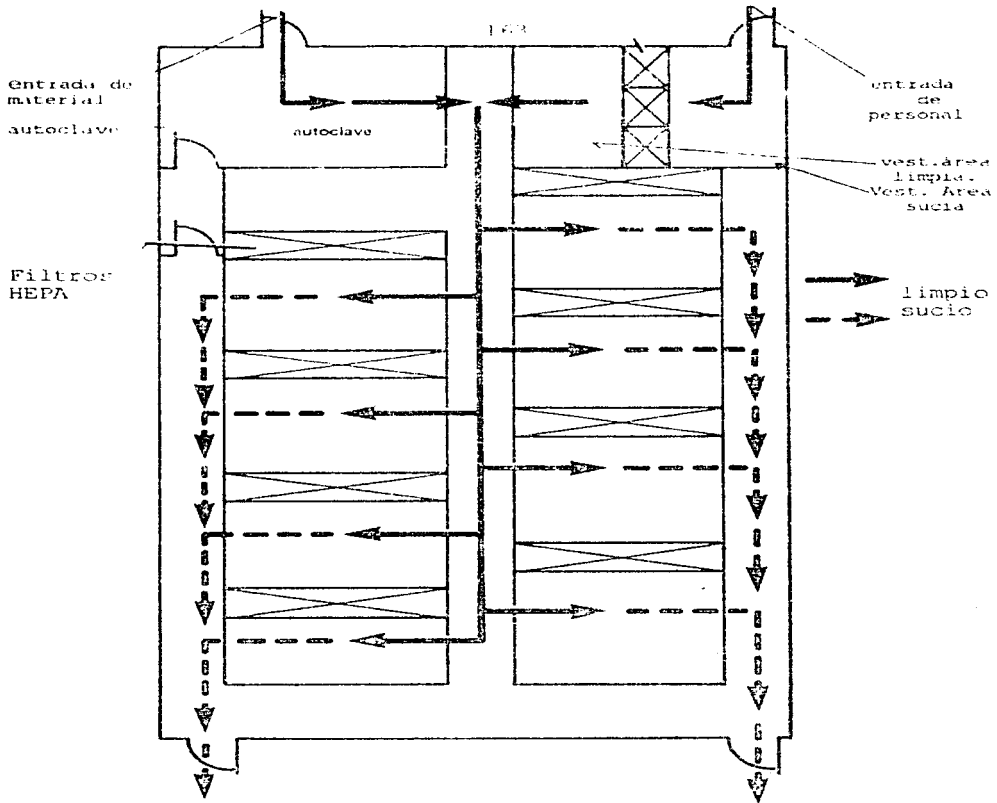


Figura 15.1 Los cuartos con barrera son utilizados para mantener la crianza o colonias experimentales de animales, en condiciones libres de enfermedades. La observación de la circulación del aire y flujo del tráfico mantiene las áreas limpias, limpias. Los técnicos en animales que trabajan en áreas limpias, camas y alimento limpio deben de mantener estrictos procedimientos de desinfección e higiene personal.

Cualquier técnico que observe extraños en el bioterio tiene la responsabilidad de encontrar por sí solo la manera de hacerlos salir del lugar. Una forma simple y sin ningún riesgo es preguntarles ¿Que se le ofrece? ¿En que puedo servirle?. Esto generalmente detiene a la mayoría de los intrusos. Siempre debe avisarse inmediatamente al supervisor de la presencia de personal no autorizado.

#### **CUARTOS DE LAVADO**

Las actividades relacionadas con el lavado de las cajas son muy ruidosas, por lo tanto éstas deben de realizarse en áreas que estén localizadas lejos de las áreas donde se mantienen a los animales y las oficinas. Estas áreas deben estar bien ventiladas para remover los vapores y otros olores. Los contactos de electricidad, las paredes, los pisos y los techos deben estar sellados para pruebas de humedad y así permitir una adecuada limpieza. Algunas áreas de trabajo pueden estar divididas por paredes que separan un área limpia de un área sucia. El equipo sucio se entrega del lado sucio, donde es preparado para su limpieza. Posteriormente las cajas serán lavadas y desinfectadas y el equipo colocado del lado limpio. De ahí éstos serán transferidos a las áreas o regresados para su utilización. Cuando se carece de paredes que delimitan claramente las áreas limpias y sucias en el área de lavado, debe de colocarse el equipo de tal manera que se impida la contaminación del equipo limpio ya lavado.

#### **AREAS DE CUARENTENA, ACONDICIONAMIENTO Y AISLAMIENTO**

Muchos bioterios tienen cuartos específicos, separados físicamente para alojar animales recién llegados o de diferente origen en el bioterio. Las áreas de cuarentena separan animales recién llegados de los animales que ya viven en el bioterio. Durante un periodo de cuarentena el personal del bioterio debe de evaluar el estado de salud de los animales y vigilarlo continuamente, mientras los animales que están en la cuarentena empiezan a ajustarse a su nuevo ambiente. Algunas áreas de cuarentena o de acondicionamiento semejan cuartos de bioterios convencionales, otros están diseñados en un sistema de cubículos. Los cubículos de cuarentena son cuartos con subdivisiones, cada uno equipado con su propio suministro de presión de aire negativa. El suministro de aire introduce aire fresco en cada cubículo y empuja el aire usado hacia el extractor, de esta manera se evita la contaminación cruzada entre dos cubículos. Un diseño similar de áreas de aislamiento puede ser utilizado cuando se conozca o sospeche de animales que portan enfermedades infecciosas que podrían dispersarse o contagiar a otros animales de laboratorio o incluso al personal.

### **ALMACEN DE ALIMENTO Y MATERIAL DE CAMA**

El alimento y el material de cama generalmente se almacena en dos áreas separadas. Ambas deben de garantizar un ambiente seco y a prueba de parásitos. Las bolsas de alimento o de material de cama deben de almacenarse sobre repisas o tarimas, las cuales son colocadas al menos 20cm. alejadas de la pared o de otras superficies. Cuando se mantiene el alimento y material de cama lejos del piso y de las paredes ayuda a protegerlo de los parásitos. Una temperatura baja constante y con baja humedad también ayuda a evitar que el alimento se descomponga.

### **ALMACEN DEL EQUIPO**

En los bioterios usualmente existen áreas para el almacenamiento de equipos de limpieza. Los cuartos para suministros proporcionan áreas de almacenamiento del equipo de limpieza como son los desinfectantes, escobas y otros equipos. Los cuartos de suministros donde se almacenan desinfectantes y otras sustancias químicas no deben ser utilizados para el almacenamiento de equipo limpio, alimento, material de cama o como un cuarto para animales. El mantener áreas separadas de almacenamiento reduce el riesgo de contaminación química de la cama, el alimento o el equipo limpio. Los corredores y los pasillos no deben de ser utilizados como áreas de almacenamiento para equipo limpio dado que éstos artículos pueden obstruir el flujo del tráfico y acumular suciedad.

### **AREAS PARA EL PERSONAL**

Las áreas para el personal incluyen las oficinas así como también un área de descanso, regaderas y casilleros. Estas áreas deben estar separadas de todos los demás cuartos. El área de descanso y las oficinas son las únicas que pueden estar dentro del bioterio.

### **CUARTO DE PROCEDIMIENTOS**

El cuarto de procedimientos es el lugar donde los investigadores, ayudantes de investigador y técnicos en animales de laboratorio desarrollan la parte experimental o los procedimientos terapéuticos con los animales. En estos lugares se realizarán todas aquellas actividades que, si se realizaran dentro del cuarto donde viven los animales, les provocaría estrés o molestias. La mayor parte de los cuartos de procedimientos contienen mesas para exploración para facilitar el trabajo experimental, así como también áreas para almacenamiento.

### **PLANTA DE EMERGENCIA**

Debe de existir una planta de emergencia en los bioterios, ya que si la ventilación, el aire acondicionado y el sistema de calefacción fallan, el aire fresco será inaccesible. Esto ocasionará que la temperatura y los niveles de amoníaco se eleven en cada uno de los cuartos de los animales. Si se mantienen por mucho tiempo los niveles de amoníaco, bióxido de carbono y de temperatura

se pueden producir situaciones que afecten la salud de los animales.

#### AGENTES PELIGROSOS

La investigación puede involucrar el uso de materiales o procedimientos que representan un riesgo físico, químico o radiológico para el personal y los animales de laboratorio. Un riesgo biológico puede ser cualquier agente infeccioso, una sustancia inanimada o procedimientos que afectan los tejidos. Un riesgo biológico representa un riesgo real y potencial para los seres humanos y animales directamente a través de la infección o la exposición indirecta por la destrucción ambiental. Únicamente personal entrenado y calificado debe manejar los animales contaminados. La completa comprensión del potencial de problemas y precauciones relacionadas con el riesgo biológico es esencial que se le de a conocer a cualquier persona relacionada con la investigación.

Se deben de colocar señalamientos y avisos apropiados en el bioterio de los sitios o de los riesgos biológicos existentes (Fig 15.2). Los animales contaminados o sus desechos deben de eliminarse en áreas que ostentan un símbolo de riesgo biológico. Se deben desarrollar procedimientos detallados que expliquen al personal el peligro potencial y las precauciones que involucra el manejar éste tipo de riesgos.

#### Tipos de Riesgo Biológicos

**Radioisotopos:** Estas son formas activas de elementos normalmente no radiactivos. Estas sustancias emiten muy bajos niveles de radiación, lo cual los hace valiosos como trazadores biológicos en investigaciones interesadas en el metabolismo. Por lo regular este tipo de isotopos son peligrosos únicamente si hay un contacto directo con ellos. El uso de algunos, sin embargo requiere extremas precauciones y medidas de seguridad. Por lo que el personal debe utilizar detectores o monitores que registren el grado de exposición a la radiación.

**Patógenos:** Estos son organismos vivos como bacterias, hongos, parásitos e incluso virus que potencialmente son una amenaza para los humanos y los animales. Algunos patógenos pueden ocasionar enfermedades y pueden estar presentes durante el proceso experimental, sobre todo en los animales que no son libres de patógenos; por ejemplo, la tuberculosis en los monos o la fiebre Q en las ovejas. Otros patógenos son utilizados como componentes de algún estudio de investigación. En ambos casos se deben de establecer medidas de seguridad, así como procedimientos que protejan al personal y a los investigadores.



**BIOLOGICOS  
PELIGROSOS**



**PELIGRO  
RADIACION**

**Figura 15.2** Todos los cuartos o ambientes que contienen riesgos potenciales deben ser identificados con etiquetas apropiadas que se localicen fácilmente y sean llamativas. Esto ayuda a mantener la seguridad del personal no autorizado en estas áreas, así como recordar al personal el seguir las instrucciones prescritas.

**Mútagenos:** Son sustancias que causan cambios en los cromosomas por lo que inducen a la presencia de mutaciones. Por ejemplo; altas dosis de rayos X y algunas sustancias químicas. Los carcinógenos son sustancias que pueden producir cáncer.

**Toxinas:** Estas son sustancias venenosas producidas por bacterias, plantas o células animales. Algunas bacterias, por ejemplo, producen la toxina tetánica y algunas semillas de plantas producen una toxina denominada risina.

#### **Delimitación de un Riesgo**

En el bioterio se pueden seguir las siguientes instrucciones para prevenir y delimitar riesgos:

- 1.- Diferentes presiones de aire pueden proporcionar áreas con presión negativa.
- 2.- La filtración del aire que sale de los laboratorios, de los cuartos de los animales, así como de los gabinetes ventilados.
- 3.- Sellos de aire y el paso a través de autoclaves localizados entre áreas limpias y contaminadas.
- 4.- Barreras con la presencia de luz ultravioleta en las puertas, sellos de aire y en aquellos laboratorios o áreas en donde deben de ser destruidos organismos en la superficie.
- 5.- Cuartos para el cambio de ropa y baño para el personal.
- 6.- Sistemas de intercomunicación entre áreas limpias y áreas de riesgos biológicos.
- 7.- Tratar el drenaje de laboratorios contaminados, así como también el del lavado de cajas.
- 8.- Contar con válvulas a prueba de reflujo en el suministro de agua.
- 9.- Separación entre áreas con posibilidades de riesgo, a través de la utilización de sistemas como gases comprimidos, suministro de vapor, vacío central, drenaje en los laboratorios, descontaminación del drenaje y del agua.
- 10.- Establecer un programa detallado de operaciones para cada situación y cada riesgo biológico posible. Esto debe ser cuidadosamente seguido tanto por el personal del bioterio como por los investigadores.

Algunos de estos lineamientos están presentes en los cuarto de áreas o bioterios, especialmente diseñados para el manejo de riesgos biológicos (Fig. 15.3).



## INSTALACIONES PARA CONFINAMIENTO DE MATERIAL CON BIORIESGOS

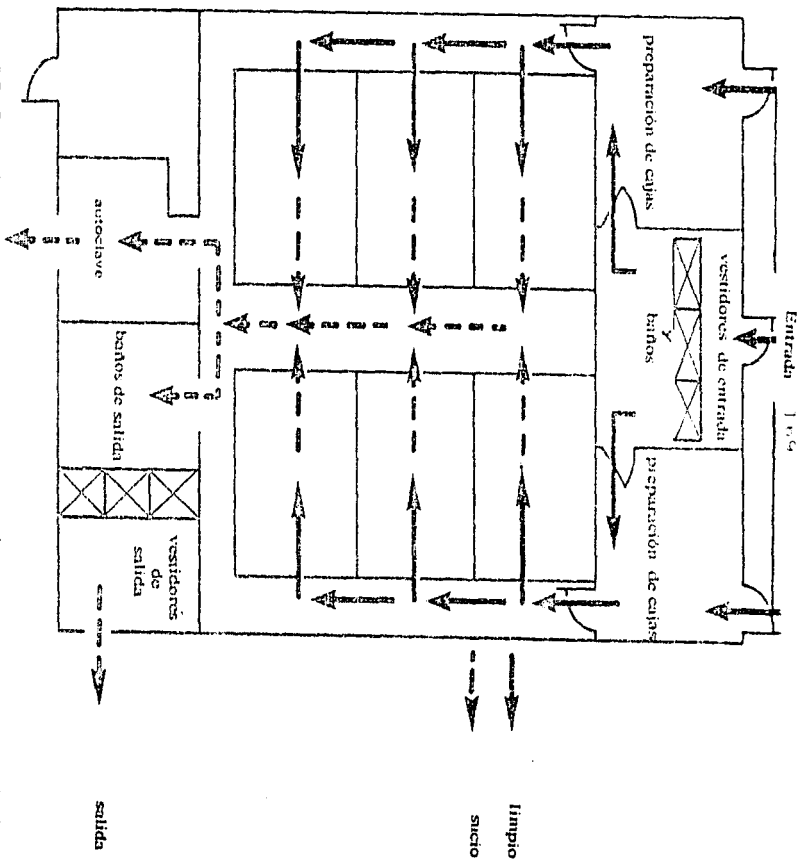


Figura 15.3 Programa que nos muestra áreas para la delimitación de riesgos biológicos que asegura que cualquier material expuesto a uno de estos riesgos, es descontaminado en un área especial antes de ser removido de la misma área. Las autoclaves, los filtros de aire, los incineradores y las rociadoras, ayudan a descontaminar riesgos biológicos en condiciones experimentales.

## ELIMINACION DE CADAVERES

Los animales muertos generalmente se colocan en bolsas de plástico y se congelan o mantienen en refrigeración hasta que se les destruye o saca del bioterio. Los envases de plástico o metal utilizados para almacenar los cadáveres, deben ser a prueba de escurrimientos y tener una tapa fija. También se les debe vaciar frecuentemente. Los cadáveres refrigerados deben de mantenerse entre 4°C y 7°C. A estos recipientes también se les debe desinfectar frecuentemente. En estos recipientes nunca se debe de colocar otra cosa más que cadáveres o desechos de estos animales. Los cadáveres usualmente pueden ser eliminados de una manera segura si se realiza a través de incineración o si se les destruye en un triturador biológico.

## ALOJAMIENTO - MICROAMBIENTE EN EL CUARTO DE LOS ANIMALES.

Debido a que la mayor parte de la vida los animales la pasan dentro de una caja o jaula, esta constituye el principal ambiente de contacto con los animales. En estos lugares los animales deben de tener libertad de movimiento y un acceso fácil a agua y comida limpia. Existen muchas publicaciones que describen los métodos apropiados de alojamiento y de cuidados para las especies de laboratorio más comunes. El manual de procedimientos institucionales de operación (MIPO), el cual estará basado en el equipo con que cuenta la unidad, debe describir los procedimientos y técnicas recomendables de alojamiento que se seguirán en un bioterio en particular.

### Comodidad y Movimiento

Además de las recomendaciones de espacio establecidas para los animales de laboratorio, las cuales permiten que adopte posturas normales dentro de la caja, se debe dar suficiente espacio para que los animales giren sobre su propio eje, se estiren y tengan libertad de movimiento sin restricciones. Si se colocan demasiados animales en una caja, o se usan cajas demasiado pequeñas, se puede ocasionar estrés en ellos; este estrés puede afectar los parámetros fisiológicos y de conducta de los animales, alterando los resultados de la investigación. Sobrepoblar una caja no es solamente inhumano, sino también puede estar incluso en contra de la ley. Si un animal se encuentra estresado, puede favorecer a la presentación de alguna enfermedad. En la guía para el cuidado y uso de los animales de laboratorio publicada por los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos, se presentan los mínimos de espacios y tamaños de cajas recomendados para la mayoría de las especies de animales de laboratorio (Tabla 15.2).

### MATERIAL DE CAMA

El término de cama en el área de los animales de laboratorio, se refiere a la utilización de una sustancia capaz de absorber los desechos en una charola o en el piso de la jaula donde se

encuentran los animales. El término de cama, se da debido a que es el material con el cual está en contacto el animal.

El tipo de caja determina que material de cama debe ser utilizado; esto es, si va a ser una cama de contacto (directa) o de no contacto (indirecta). Se debe de tener cuidado de evitar la contaminación del material de cama, dado de que los animales estarían expuestos a un riesgo potencial.

Todos los materiales de cama directos o indirectos, deben de ser esterilizados siempre que sea posible antes de su uso, para destruir sustancias contaminantes y parásitos. Otras características de un adecuado material de cama son:

- 1.- Disponibilidad: El material de cama es parte del ambiente del animal de laboratorio. De acuerdo a esto, cualquier cambio o uso de material de cama diferente, puede introducir una variable indeseable en el proceso experimental. Se debe de utilizar un material de cama uniforme en tamaño, así como en cantidad durante todo un proceso experimental en particular.
- 2.- Inerte desde el punto de vista nutricional: Si el material de cama es masticado o ingerido, no debe de producir ningún daño en los animales. Así mismo el material de cama no debe de tener ningún valor nutricional, dado de que de esta manera se evita la presencia de variables indeseables en la investigación. Por ejemplo, el uso de caña de azúcar como material de cama no es posible debido a su alto valor nutritivo.
- 3.- Absorbencia: Un adecuado material de cama debe ser capaz de absorber agua, muchas veces más que su propio peso. Esto es necesario para poder absorber las excreciones de los animales.
- 4.- No tóxico: El material de cama no debe de ser tratado con desodorizantes, desinfectantes u otras sustancias químicas, dado que esto puede afectar a los animales y consecuentemente a la investigación.
- 5.- Comodidad: El material de contacto no debe de tener filos o terminaciones puntiagudas que pudieran afectar a los animales y dificultar a ellos el preparar nido con el material.
- 6.- Facilidad de eliminación: El material de cama utilizado debe ser fácil y seguro de eliminar. Si no se le puede incinerar, esto puede ocasionar problemas de salud.

No existe un material de cama ideal para todas las especies y todas las aplicaciones. Todos los productos utilizados como materiales de cama, crean una cierta cantidad de polvo y pueden incluso formar grumos en las coladeras o en las cajas. El uso de clote de maíz, es muy bueno en el sentido de que es capaz de absorber una gran cantidad de humedad, sin embargo produce grandes cantidades de polvo cuando el animal se mueve.

Existen algunos productos fibrosos que absorben la humedad mucho mejor que la viruta de madera, pero es escaso el tamaño de la partícula para ratones.

También existen pequeños tubos cortos de papel, que son un producto residual de la industria de fabricación de popotes para refrescos, los cuales son excelentes como material de cama para los ratones; no producen polvo, son ligeros y son también altamente absorbentes.

Los cobayos, sin embargo cuando utilizan este material rápidamente lo destruyen y forman un basurero.

Si se tiene que agregar al material de cama antisépticos o antibióticos, esto es únicamente para materiales de cama indirecto, ya que si los animales los llegaran a masticar o estuvieran en contacto con él podrían afectar los resultados de la investigación. Algunos investigadores no quieren que sustancias químicas utilizadas en la reducción de fermentación de colección de desechos, estén cerca de los animales.

Los investigadores deben de ser notificados si es necesario cambiar el tipo de cama u otro suministro o cambiar la técnica de crianza.

Tabla 15.2 Mínimo espacio recomendado para animales de laboratorio

Animales	Peso g	Tipo de alojamiento	Área de piso/ animal		Altura (a) Pulg cm	
			Pulg.	cm <sup>2</sup>		
Ratón	<10	caja	6.0	38.71	5	12.70
	10-15	caja	8.0	51.62	5	12.70
	15-25	caja	12.0	77.42	5	12.70
	>25	caja	15.0	96.78	5	12.70
Rata	<100	caja	17.0	109.68	7	17.78
	100-200	caja	23.0	148.40	7	17.78
	200-300	caja	29.0	187.11	7	17.78
	300-400	caja	40.0	258.08	7	17.78
	400-500	caja	60.0	387.12	7	17.78
	>500	caja	70.0	451.64	7	17.78
Hámsters (b)	<60	caja	10.0	64.52	6	15.24
	60-80	caja	13.0	83.88	6	15.24
	80-100	caja	16.0	103.23	6	15.24
	>100	caja	19.0	122.59	6	15.24
Cobayo (b)	<350	caja	60.0	387.12	7	17.78
	>350	caja	101.0	651.65	7	17.78
	Kg		Pie <sup>2</sup>	m <sup>2</sup>		
Conejo	<2	jaula	1.5	0.14	14	35.56
	2-4	jaula	3.0	0.28	14	35.56
	4-5.4	jaula	4.0	0.37	14	35.56
	>5.4	jaula	5.0	0.46	14	35.56
Gato	<4	jaula	3.0	0.28	24	60.96
	>4	jaula	4.0	0.37	24	60.96
Perro (c)	<15	perrera	8.0	0.74	-	-
	15.30	perrera	12.1	1.12	-	-
	>30	perrera	24.0	2.23	-	-
	<15	jaula	8.0	0.74	32	81.28
	15-30	jaula	12.1	1.12	36	91.44
	>30	jaula	(c)	(c)	(c)	(c)
Primates no humanos						
(d)						
Grupo 1	<1	jaula	1.6	0.15	20	50.80
Grupo 2	1-3	jaula	3.0	0.28	30	76.20
Grupo 3	3-10	jaula	4.3	0.40	30	76.20
Grupo 4	10-15	jaula	6.0	0.56	32	81.28
Grupo 5	15-25	jaula	8.0	0.74	36	91.44
Grupo 6	>25	jaula	25.1	2.33	84	213.36

**Tabla 15.2** Mínimo espacio recomendado para animales de laboratorio (cont.).

Animales	peso	Tipo de alojamiento	Área de piso/ animal		Altura (a) Pulg cm
	Kg		Pie <sup>2</sup>	m <sup>2</sup>	
Pichones	-	Jaula	0.8	0.074	(e)
Codornices	-	Jaula	0.25	0.023	(e)
Pollos	<0.25	Jaula	0.25	0.023	(e)
	0.25-0.5	jaula	0.50	0.046	(e)
	0.5-1.5	jaula	1.00	0.093	(e)
	01.5-3	jaula	2.00	0.186	(e)
	>3	jaula	3.06	0.285	(e)
Oveja/ Cabra 1-4/ corral	<25	corral	10.0	0.93	-
	25-50	corral	15.0	1.39	-
	>50	corral	20.0	1.86	-
5/corral	<25	corral	8.5	0.79	-
	25-50	corral	12.5	1.16	-
	>50	corral	17.0	1.58	-
5/corral	<25	corral	7.5	0.70	-
	25-50	corral	11.3	1.05	-
	>50	corral	15.0	1.39	-
Cerdos 1-4/ corral	<25	corral	6.0	0.56	-
	25-50	corral	12.0	1.11	-
	50-100	corral	24.0	2.23	-
	100-200	corral	48.0 <sup>f</sup>	4.46	-
	>200	corral	60.0 <sup>f</sup>	5.57	-
5/corral	<25	corral	6.0	0.56	-
	25-50	corral	10.0	0.93	-
	50-100	corral	20.0	1.86	-
	100-200	corral	40.0	3.72	-
	>200	corral	52.0	4.83	-
5/corral	<25	corral	6.0	0.56	-
	25-50	corral	9.0	0.84	-
	50-100	corral	18.0	1.67	-
	100-200	corral	36.0	3.34	-
	>200	corral	48.0	4.46	-

**Tabla 15.2** Mínimo espacio recomendado para animales de laboratorio (cont.).

Animales	Peso Kg	tipo de alojamiento	Area de piso/ animal		Altura (a)	
			Pie <sup>2</sup>	m <sup>2</sup>	Pulg	cm
Ganado	<350	corral	16.0	1.49	-	-
	350-450	corral	18.0	1.67	-	-
	450-550	corral	22.0	2.04	-	-
	550-650	corral	24.0	2.23	-	-
	>650	corral	27.0	2.51	-	-
1-4/ corral	<75	corral	24.0	2.23	-	-
	75-200	corral	48.0	4.46	-	-
	200-350	corral	72.0	6.69	-	-
	350-500	corral	96.0	8.92	-	-
	500-650	corral	124.0	11.52	-	-
5/corral	>650	corral	144.0	13.38	-	-
	<75	corral	20.0	1.86	-	-
	75-200	corral	40.0	3.72	-	-
	200-350	corral	60.0	5.57	-	-
	350-500	corral	80.0	7.43	-	-
5/corral	500-650	corral	105.0	9.75	-	-
	>650	corral	120.0	11.15	-	-
	<75	corral	18.0	1.67	-	-
	75-200	corral	36.0	3.34	-	-
	200-350	corral	54.0	5.02	-	-
Caballos	350-500	corral	72.0	6.69	-	-
	500-650	corral	93.0	8.64	-	-
	>650	corral	108.0	10.03	-	-
	-	caballeriza	44.0	4.09	-	-
	-	corral	144.0	13.38	-	-
Ponies	1-4/corral	-	72.0	6.69	-	-
	4/corral	<200	60.0	5.57	-	-
		>200	72.0	6.69	-	-

(a)- Del piso al techo de la caja.

(b)- Recomendaciones de espacio comparables a las regulaciones en uso de la ley para el bienestar animal de los Estados Unidos. Las madres con sus crías requieren más espacio.

(c)- Estas recomendaciones pueden requerir modificaciones de acuerdo a la conformación corporal de los animales y de las razas. Algunos perros, especialmente los de límite superior de cada rango de altura pueden requerir espacio de piso adicional o de la

altura de la jaula, para asegurar que se cumplan con las regulaciones de la ley para el bienestar animal de los Estados Unidos. Estas regulaciones (FR, 1984 A) establecen que la altura de cada perrera debe de ser suficiente para permitir al animal permanecer en una posición cómoda y que el número de pies cuadrados de la superficie del piso debe de ser igual al cuadrado de la suma de la longitud del perro en pulgadas, medido desde la punta de la nariz hasta la base de la cola, más 6 pulgadas expresándolo en pies cuadrados". Si los perros son alojados en grupos dentro de las perrerías únicamente se deben de alojar animales de carácter compatible.

(d)- El diseño de los grupos esta basado aproximadamente en los tamaños de varias especies de primates no-humanos utilizados en investigación biomédica. Ejemplos de especies incluidas en cada grupo son:

- Grupo 1- Marmoset, Tamarines e infantes de diferentes especies.
- Grupo 2- Capuchinos, Monos ardilla, y otras especies similares.
- Grupo 3- Macacos y especies africanas.
- Grupo 4- Machos Macacos y especies africanas grandes.
- Grupo 5- Babons y especies no mayores de 15 Kg.
- Grupo 6- Grandes monos y especies similares.

Se recomienda que las instituciones proporcionen alternativas a el alojamiento individual. Los animales Jovenes e infantes por ejemplo, deben de ser alojados en grupos.

Si los adultos van a ser alojados en grupos es esencial que únicamente animales con carácter compatible puedan mantenerse juntos.

Animales que se alojan por primera vez deben de vigilarse cuidadosamente para detectar daños o peleas. El espacio dentro de las jaulas debe ser enriquecido con estructuras como perchas o protecciones. La altura mínima de los corrales y de las jaulas utilizadas para los primates no-humanos debe de ser de 6 pies (1.8m). Para los chimpances y especies similares (Orangután, Giboons, Mono araña y Mono aviador), la altura de las jaulas debe de ser tal, que permita a los animales cuando estos extiendan los brazos, mecerse dentro de la jaula desde el techo sin que sus pies toquen el piso.

(e)- Debe haber suficiente espacio en la parte superior del cuarto o de la jaula, para que los animales permanezcan erectos.

(f)- Las recomendaciones de espacio no son aplicables a las cerdas gestantes, o a las yeguas en la misma circunstancia.



## CAPITULO DIECISEIS

### EQUIPO DEL BIOTERIO

El bioterio requiere el uso de equipo especializado como son; anaqueles para las cajas, autoclaves, limpiadores al vacío y máquinas para el lavado de cajas.

Estos son sumamente costosos y el presupuesto para mantenerlos en operación también lo es. Este equipo ayuda al personal a proporcionar un cuidado y desinfección de alta calidad para los animales. El cuidado, el mantenimiento y el uso apropiado de este equipo es por lo tanto responsabilidad de los técnicos que los utilizan.

Es importante que el técnico en animales de laboratorio, aprenda el cuidado y uso apropiado de cada pieza de equipo dentro del bioterio. Si un equipo falla, el operador debe sacarlo de uso inmediatamente. La falla debe ser reportada al jefe o responsable en turno y ordenar la reparación o el reemplazo tan pronto como sea posible.

#### CONFINAMIENTO PRIMARIO

Existen muchos tipos o sistemas de confinamiento para los animales. El sistema utilizado depende de la naturaleza de la investigación y de la forma en que se crían y manejan los animales en el bioterio.

Las cajas que forman el alojamiento primario deben de tener superficies lisas, sin terminaciones bruscas, presencia de puntas filosas u oxidación. Deben ser también a prueba de escape, así como estar bien ventiladas para mantener un ambiente apropiado. Si las cajas están inadecuadamente ventiladas, la humedad provocada por el goteo del suministro de agua, así como por la orina, mojará y mantendrá húmedos a los animales. Sin embargo, si existe una buena ventilación, esto podrá ser corregido. Las cajas deben estar libres de ángulos o modificaciones que permitan que se acumule la humedad y la suciedad, así como dificulten su retiro. Un diseño apropiado de cajas, permite su manejo seguro tanto por el operador como para los animales.

#### Materiales de Construcción para las Cajas

Las cajas deben de estar fabricadas con materiales lo suficientemente durables para resistir los rigores del uso y la limpieza. Los materiales más utilizados son; acero inoxidable, aluminio o diferentes tipos de plásticos. El acero inoxidable es liso, durable, no provoca oxidación y es resistente a la mayor parte de los agentes químicos para remover los depósitos de orina. El acero inoxidable es caro pero sumamente durable y a la larga cubre su precio. El aluminio es menos caro y pesa menos que el acero inoxidable pero también es menos durable. La lámina galvanizada y la madera no son recomendables como materiales para

la construcción de cajas. La lámina galvanizada y el hierro son comparativamente más pesados. Estos materiales se corroen fácilmente ante la presencia de la mayor parte de las sustancias químicas de limpieza. La madera cuando no ha sido sellada es rugosa, con superficies salientes y agudas que pueden dañar a los animales, incluso debido a su absorbencia es difícil de desinfectar. La madera cuando ha sido sellada con pintura epóxica es mucho más fácil de desinfectar, pero no resiste las altas temperaturas o se deforma con el tiempo.

Los plásticos más utilizados para la construcción de las cajas son; el polietileno, el polipropileno o el policarbonato. El polietileno se derrite a una temperatura de lavado normal (82°C) y tiene muy poca resistencia al impacto. Estas cajas usualmente se utilizan como cajas desechables para una sola vez en roedores. El polipropileno resiste altas temperaturas de lavado, pero es opaco, lo cual disminuye la visibilidad. En algunos casos las cajas que no son transparentes son preferibles especialmente para aquellos animales que gustan de la soledad.

El policarbonato tiene una resistencia alta al impacto, es transparente y también resiste las altas temperaturas. Los plásticos no se oxidan, sus superficies son lisas y resisten la mayor parte de las sustancias químicas utilizadas en la limpieza. Las cajas construidas con mallas de metal o de plástico también ofrecen una buena visibilidad. Estas permiten la observación de los animales sin que se les moleste.

#### **Cajas para Roedores Tipo Caja de Zapato**

Una caja tipo de zapato para roedores, es una caja que tiene un piso sólido de plástico o de acero inoxidable y una tapa también de acero inoxidable con una depresión en forma de "V" que sirve para colocar la comida y la botella del agua. Las tapas deben de cubrir perfectamente la superficie de la caja, ya sea por presión o con algún gancho para evitar el escape de los animales (Fig. 16.1). Se pueden utilizar filtros en forma de capelo, para prevenir la contaminación por partículas suspendidas en el aire. En estas cajas es conveniente utilizar material de cama de contacto. Las botellas de agua y los comederos son fácilmente visibles para una revisión diaria. La mayor parte de las cajas tipo para zapato son apilables una dentro de la otra, lo que permite un fácil almacenamiento.

#### **Sistemas de Cajas Colgadas del Techo del Anaquel**

Este sistema de cajas puede estar hecho en plástico o en malla de metal. Generalmente estas cajas se suspenden o cuelgan de un anaquel de aluminio o de acero inoxidable que esta colocado sobre unas ruedas que permiten su movilidad (Fig. 16.2). Estos sistemas de cajas tienen perforado el piso o pueden también tener un piso sólido. Los desechos de los animales caerán a través de la malla de metal del piso en charolas para la recolección de desechos, las cuales deben de ser vaciadas y limpiadas periódicamente. Si el

espacio entre los hoyos del piso de la malla es demasiado grande, pueden ocasionar daños o irritación a las patas de los animales.

Las cajas con el piso de malla recubierto de plástico reducen la irritación y proporcionan a los animales una superficie más cómoda y menos fría. Las cajas con pisos de metal perforado son también una alternativa cómoda para los animales. Las cajas en forma de caja de zapatos de plástico colgadas o suspendidas con el piso sólido, requieren de un material de cama de contacto, el cual absorberá los desechos de los animales y por lo tanto se requiere que se le cambie frecuentemente. Las cajas suspendidas pueden tener tapas individuales o pueden estar suspendidas de tal manera que el techo de donde se suspenden sirve como tapa.

Las cajas suspendidas generalmente se deslizan sobre correderas y se abren de una manera muy similar a la de un cajón. De tal manera que se colocan nuevamente en posición, simplemente regresándolas sobre estas correderas. Las cajas sucias se remueven del anaquel y se cambian por cajas limpias. Como el anaquel usualmente tiene muchas cajas, este sistema no es práctico cuando se tiene un número reducido de animales. Un anaquel de este tipo puede mantener por ejemplo 36 cajas de cada lado en el caso de que estas sean para ratones.

Las cajas suspendidas en piso de malla, ya sea en acero inoxidable o cubiertas con plástico, tienen mucho mejor ventilación que las cajas de piso sólido. Este tipo de cajas, no es recomendable para mantener animales jóvenes, dado que las crías de las especies de roedores muy pequeños podrían caer a través de la malla. Las cajas de metal también tienen por esta misma ventilación un excesivo contacto con corrientes de aire y por lo tanto los animales pierden calor rápidamente.

#### **Cajas con Puerta Frontal**

Algunas cajas para animales, tienen una puerta frontal para permitir el acceso. Este tipo de cajas está disponible tanto como caja individual como para anaqueles (Fig. 16.3). Generalmente estas cajas, están fabricadas con barras o mallas de metal en las paredes y en los pisos y presentan una charola colectora debajo del piso. Algunas cuentan con comederos y soportes para sostener las botellas de agua, como en el caso de las cajas para conejos, las cuales se colocan en la puerta frontal. Los conejos, los gatos, los perros y los primates usualmente se mantienen en este tipo de cajas.

#### **Cajas Metabólicas**

Las cajas metabólicas están diseñadas para separar la orina y el excremento en estudio (Figura 16.4). Existen muchos tipos de cajas metabólicas, algunas son más eficientes que otras. Estas cajas generalmente deben de limpiarse a mano, por que se deben manejar con mucho cuidado. Cuando se utilizan estas cajas se debe de tener especial atención en el manejo del comedero y en el suministro de agua, ya que se debe evitar que estos se mezclen. El uso de dietas en polvo especiales ayuda a evitar, que restos de alimento caigan

en los colectores de orina o alimento. La válvula del bebedero se localiza fuera de la caja, pero muy próxima al animal para que este pueda tener acceso al agua y de esta manera evitar la posible contaminación de la muestra de orina.

#### **Cajas para Grupos**

Las cajas para grupo se utilizan solo para animales de la misma especie. Estas cajas pueden ser móviles o fijas. Algunas contienen alguna percha o una tabla para descansar, la cual hace mejor uso del espacio que se le proporciona a los animales, así como proporciona un espacio de descanso por sobre el piso de la jaula. Se puede utilizar material de cama o de nido en el piso de la caja, pero esto depende de la particularidad de cada especie. Cuando los animales se alojan en grupos, el agua y el alimento frecuentemente se ofrece en más de un sitio de la caja para evitar que los animales dominantes obstaculicen la alimentación de los otros animales.

#### **Cajas de Transporte**

Existen dos tipos para movilizar animales de un lugar a otro; uno es el empaque de cartón Fig. 16.5, el cual es utilizado por los proveedores de animales para los envíos y el otro es la caja normal de uso, que se puede utilizar para transferir los animales dentro del bioterio. Las cajas de cartón sirven únicamente de una manera temporal y son solo para su transporte. El material de cama, el alimento y el agua se colocan en pequeños compartimientos con el animal. Cuando no es práctico proporcionar agua como líquido tal, se puede proporcionar una masa húmeda, frutas frescas o vegetales dentro de la caja de transporte como una fuente de agua. La Ley para el Bienestar Animal de los Estados Unidos, establece que en el embarque de ciertas especies como los cobayos, los hámsters, los conejos, los gatos, los perros y los primates no humanos, se deben de seguir estrictamente todas las indicaciones establecidas.

Estas regulaciones describen la construcción del empaque de cartón, los requerimientos de superficie, la documentación que debe de acompañar a los animales, los programas de alimentación y suministro de agua, así como detalles del embarque.

Cuando se transportan animales de un lugar a otro dentro del bioterio, no es necesario proporcionar alimento, agua o material de cama, dado de que solo estarán en la caja por un periodo de tiempo muy breve.

#### **Perreras Corrales y Asaurdas**

Este tipo de alojamientos son utilizados para animales grandes. Son áreas grandes circunscritas, con pisos a prueba de encharcamiento y con áreas de descanso elevadas con respecto del piso. La pendiente de los pisos ayuda a su drenaje y mantiene la humedad y desechos líquidos alejados de los comederos. Las superficies de estos alojamientos deben de ser fáciles de limpiar y desinfectar. Cuando estas se construyen en exteriores se debe de incluir también un techo para proteger a los animales de las

inclemencias del clima. Este tipo de construcciones normalmente se utilizan para alojar perros, ovejas, cerdos y cabras.

#### **Sistema de Microaislamiento**

Los sistemas de microaislamiento, son cajas en forma de caja de zapatos más sofisticadas, las cuales permiten un mayor control del medio ambiente. Generalmente a los animales mantenidos en estas cajas se les proporciona agua y alimento esterilizados. Cualquier procedimiento que requiera mover o quitar el filtro de la tapa se realiza dentro de una campana con flujo laminar o una mesa de trabajo ventilada (Fig. 16.7). Los procedimientos incluyen alimentación, suministro de agua, cambio de la caja y manipulación experimental. A diferencia de los esquemas de flujo laminar, en los cuales las cajas deben de permanecer en áreas especiales que reciben aire filtrado, los sistemas de microaislamiento pueden ser colocados sobre repisas en cuartos para animales convencionales.

#### **ACCESORIOS PARA ALIMENTACION Y SUMINISTRO DE AGUA**

Los animales deben de alcanzar fácilmente el agua y el alimento. Muchos tipos de comederos y dispensores para alimentos, están disponibles en el mercado y cumplen con las necesidades de los animales de laboratorio. El alimento peletizado para roedores puede mantenerse en la depresión en forma de "V" que tienen integradas todas las tapas de las cajas para roedores (Fig. 16.1) o en comederos que se atoran sobre las cajas. Los comederos en forma de "J" que se atoran en las cajas de conejos o de cobayos, generalmente son para mantener alimento peletizado (Fig. 16.8). El agua generalmente se suministra a los perros, gatos y primates no humanos en vasijas que se colocan en el piso de las jaulas. Sin embargo estas vasijas pueden contaminarse fácilmente con el excremento de los animales u otros desechos. La colocación de alimentadores u otros depósitos para el agua sostenidos a las paredes de las jaulas, ayudan a evitar el problema de la contaminación. La mayor parte de los animales de laboratorio se les suministra el agua en botellas de plástico o de vidrio, así como también con sistemas de bebederos automáticos. Los sistemas de bebederos automáticos cubren la mayor parte de las necesidades de las especies de laboratorio. En estos sistemas, el agua proviene de un suministro central y llega a los animales a través de válvulas (Fig. 16.9). Es posible que sea necesario proporcionar a los animales recién llegados, agua en botellas hasta que ellos aprendan a utilizar los sistemas automáticos. Los sistemas de bebederos automáticos deben de revisarse diariamente, sobre todo a nivel de las válvulas de suministro ya que en algunos casos puede faltar la presión y no llegar a correr el agua por la tubería. El sistema generalmente debe lavarse para reducir la acumulación de microorganismos. Los sistemas de bebederos automáticos eliminan el trabajo relacionado con el uso de las botellas. Su uso sin embargo, hace imposible vigilar el consumo de agua. Las válvulas individuales deben de revisarse periódicamente para asegurar su

correcta operación. Las válvulas que tienen fugas o que están tapadas deben de ser reemplazadas e identificarse inmediatamente como descompuestas.

#### EQUIPO PARA LAVADO DE CAJAS

Existen tres tipos de lavadoras de cajas: las de gabinete, las de anaquel y las lavadoras en túnel. Las lavadoras de gabinete, son similares a las lavaplatos domésticos, tienen una cámara en la cual el equipo sucio se introduce y es sanitizado. La máquina realiza una serie de lavados y enjuagues seguidos de un ciclo de secado después del cual el equipo se puede retirar revisándolo visualmente para ver si ha sido correctamente lavado (Fig. 16.10). Las lavadoras de anaquel, son versiones mayores de las lavadoras de gabinete, dentro de las cuales entra el rack completo con sus cajas y se lava directamente.

Las lavadoras en forma de túnel, trabajan igual que los lavados automáticos de coches. Transportan piezas de equipo en forma individual a través de una banda sin fin, que las introduce en la lavadora. El equipo viaja por una serie de estaciones donde es lavado, enjuagado y secado. Posteriormente el equipo sale del túnel listo para ser ensamblado. En el momento del ensamblado, cualquier equipo que no ha sido completamente lavado, debe ser regresado a la lavadora. Las lavadoras de cajas tienen controles que permiten regular la temperatura, el tiempo de los ciclos de lavado, el uso del detergente y también cuentan con apagadores de emergencia. También cuentan con monitores o registros que permiten observar y llenar un seguimiento del proceso. La limpieza diaria de los filtros de la máquina de lavado, así como el retiro periódico y limpieza de las válvulas asegura que los aspersores no se tapen con el material de cama u otros desechos. Para prevenir una falla de los motores o de los componentes eléctricos del equipo, se necesita que se les examine y se les de servicio regularmente por personal especializado. Los controles y registros deben de revisarse diariamente para asegurarse que están cumpliendo con las especificaciones mencionadas en el equipo, así como también de que está realizándose el proceso de saneación adecuadamente. La mayoría de este mantenimiento de rutina es desarrollado por el técnico en animales de laboratorio.

El mantenimiento apropiado y la operación de la máquina de lavado requiere de ciertas habilidades, así como de la adquisición de ciertos hábitos y responsabilidades. Si las piezas del equipo después de ser lavadas lucen, se sienten y lo más importante, cumplen las pruebas biológicas de limpieza, esto significa que ha sido correctamente sanitizado. Si el equipo no ha sido adecuadamente sanitizado, es responsabilidad del técnico en animales de laboratorio el informar a sus superiores y ayudarle a determinar la causa del problema.

En algunos bioterios el uso de equipos de limpieza con vapor, completa el lavado inicial de las cajas. Así mismo cuando no

existen máquinas de lavado de cajas, el método de limpieza primario debe de ser el uso de vapor en conjunto con cualquier otro desinfectante o detergente. El uso de vapor a presión requiere un manejo cuidadoso por parte del usuario.

#### INSTRUMENTOS DE MEDICION

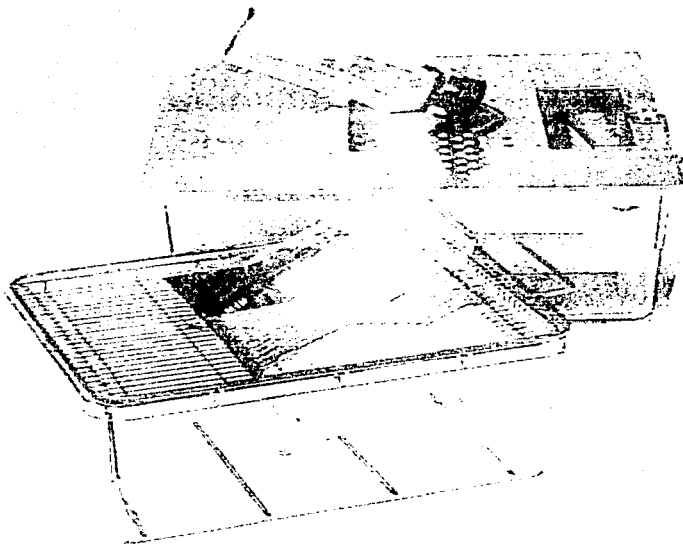
El trabajo en un laboratorio o bioterio, requiere del conocimiento de cierto equipo de medición. El técnico en animales de laboratorio debe de pesar a los animales, determinar la temperatura corporal, o tomar algunas otras mediciones.

Antes de pesar a los animales, el técnico debe familiarizarse con el diseño de la balanza que va a utilizar. La capacidad de la balanza se refiere al máximo peso que el dispositivo puede medir correctamente. La exactitud de una balanza se refiere al grado en el cual la medición realizada por el equipo, concuerda con el peso real del animal. Una buena balanza permite determinar incrementos pequeños de peso sin comprometer la exactitud. La velocidad y la fácil operación también son muy importantes en la elección de una balanza. La mayor parte de las balanzas incluyen un mecanismo que reduce al mínimo los movimientos de la aguja o el indicador, durante el pesaje. Las balanzas que cuentan con un platillo o una superficie de medición en la parte superior, son las más comúnmente utilizadas en los bioterios (Fig. 16.11).

Las balanzas de triple escala, tienen tres tipos de escalas separadas, cada una de la cual pesa en diferente escala. Estas balanzas usualmente tienen capacidad de 2Kg y una sensibilidad de 0.1g. La capacidad de las escalas es la siguiente: una escala puede medir de 0 a 10g con incrementos de 0.1g; otra mide de 0 a 100g con incremento de 1.0g; y la tercera mide de 0 a 500g con incrementos de 10g. Así mismo se pueden colocar contrapesos que incrementan la capacidad de 610g a poco más de 2Kg.

Las básculas de plataforma leen el peso directamente de una manera similar a las básculas caseras para baño. Estas se utilizan principalmente en las especies mayores. Algunas están diseñadas para que el animal pueda descansar durante el procedimiento del pesaje.

Existen también otro tipo de balanzas que tienen un disco o platillo en la superficie, con un lector digital. Estas pueden colocarse en ceros y tararse automáticamente con el toque de un botón, de esta manera se elimina el peso del contenedor antes de pesar al animal. Algunos modelos pueden también proporcionar un impresor con lo cual se obtiene el peso individual y pueden también calcularse pesos promedio. Estas balanzas electrónicas pueden exportar los datos a una computadora para su conversión o inclusión en hojas de cálculo. De esta manera la información podrá ser consultada en un futuro.



**Fig.16.1** Estos son los dos tipos de cajas en forma de zapato para roedores, que comúnmente son utilizadas en los bioterios. La caja en la parte posterior está cubierta con un filtro de capelo, el cual reduce la posible contaminación y transmisión de enfermedades. Es posible colocar en la tapa de las cajas soportes que detengan las botellas, o perforaciones que faciliten la introducción del dispositivo del bebedero automático.



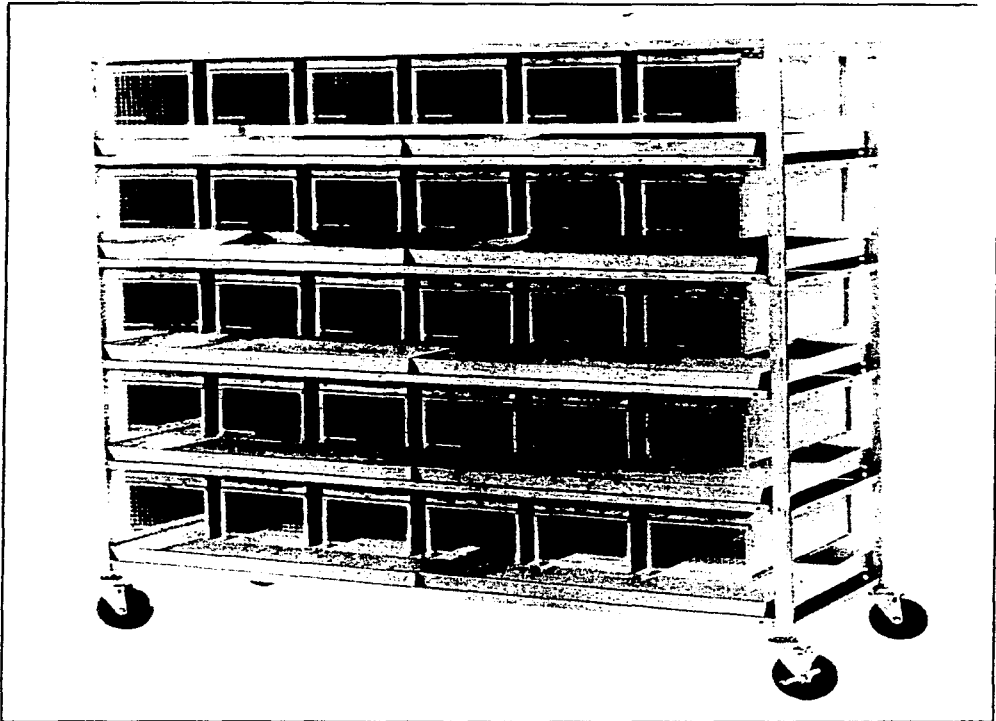


Fig. 16.2 Anaquel para jaulas suspendidas y fabricadas en malla de acero inoxidable, las cuales cuentan con una charola para la colección de los desechos, este tipo de jaulas se utiliza comúnmente para ratas. Las tarjetas de identificación para las cajas pueden colocarse sobre los lados de cada caja.

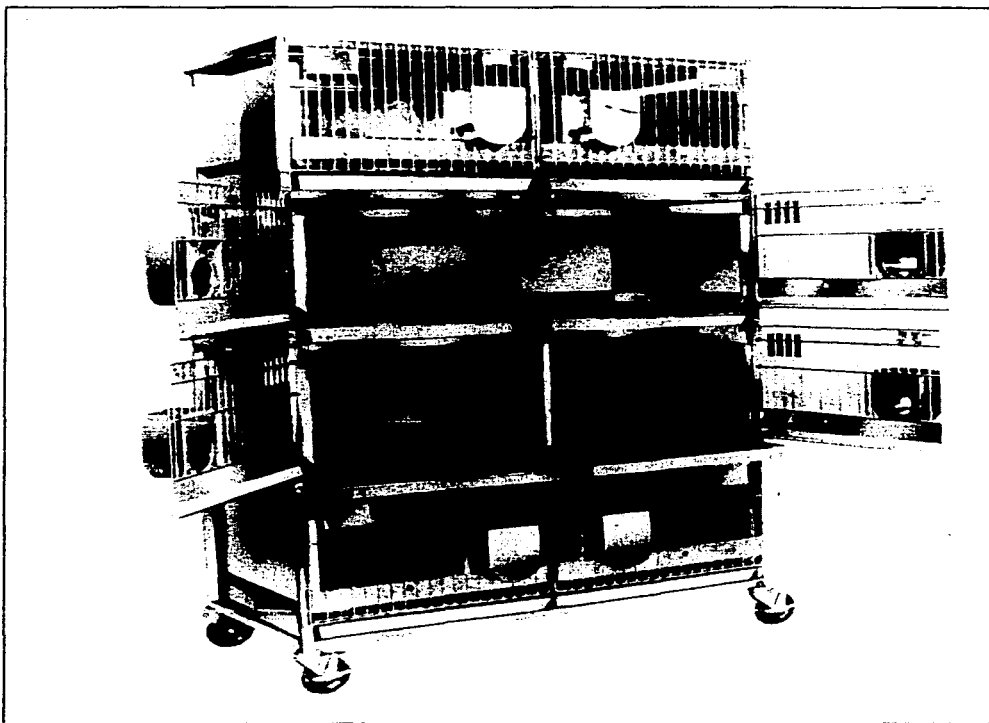
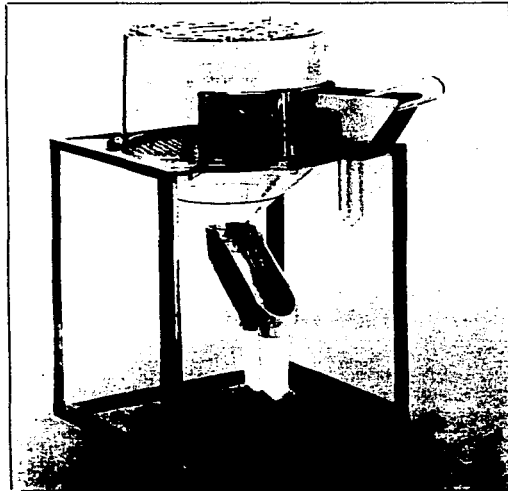
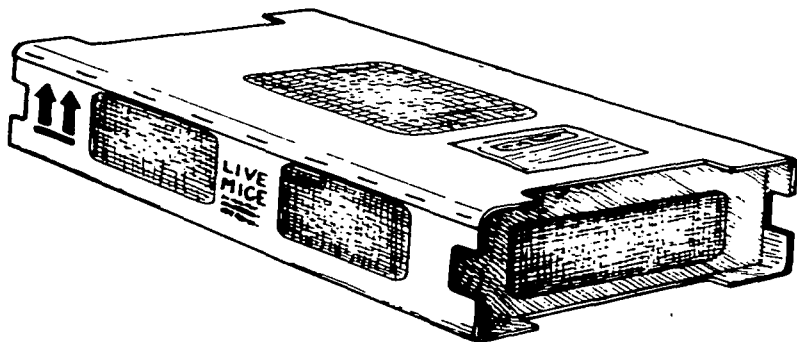


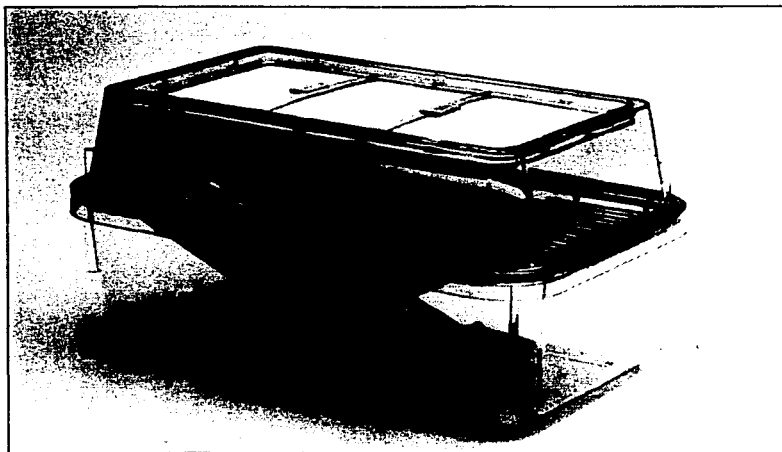
Figura 16.3 Anaquel con cajas de diferentes tamaños con las puertas abiertas.



**Figura 16.4** Cajas metabólicas para roedores, las cuales se utilizan para recolectar y medir orina y excremento de animales alojados individualmente.



**Figura 16.5** Caja para embarque de roedores diseñada para satisfacer las necesidades de bienestar de los animales durante el viaje. Las salientes de las cajas favorecen el flujo de aire en cada caja. Las ventanas cubiertas por malla y material filtrante reducen la posible contaminación por partículas durante el embarque.



**Figura 16.6** Caja tipo microaislador, la cual proporciona una excelente protección contra los microorganismos. Para garantizar la efectividad de esta caja se debe manejar y mantener en un ambiente limpio.

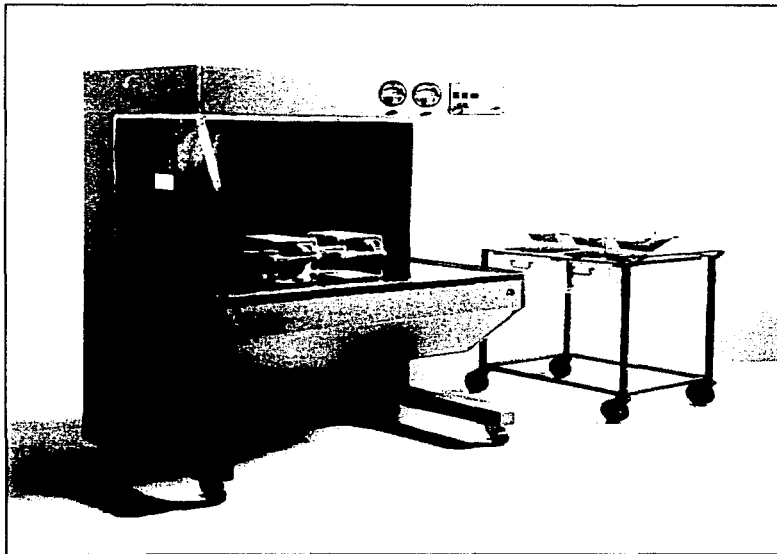
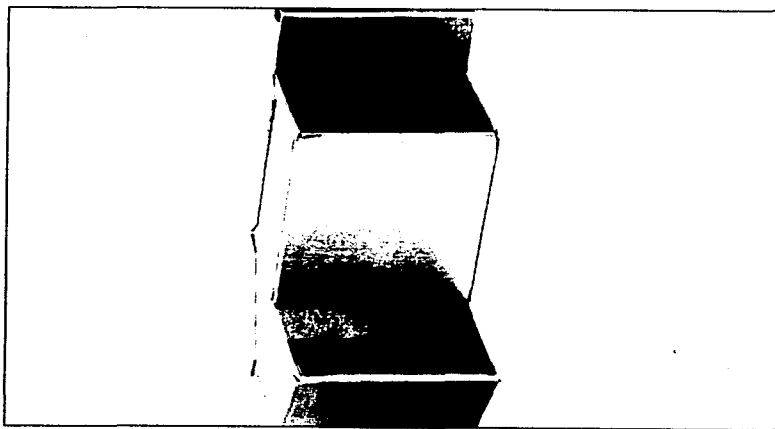


Figura 16.7 Para asegurar que el ambiente de los microaisladores se mantenga libre de microorganismos, las cajas deben de ser abiertas únicamente dentro de un gabinete con campana de control ambiental como esta campana de flujo laminar. Esta campana asegura que únicamente aire libre de contaminantes este en contacto con el interior de las cajas cuando se abren.



**Figura 16.8** Comedero en forma de "J" utilizado frecuentemente para conejos, cobayos y perros. El fondo del comedero debe de revisarse periódicamente para evitar la acumulación de contaminantes o de polvos, los cuales pudieran afectar el consumo de alimento del animal.



**Figura 16.9** Válvula de sistema de bebederos automáticos, utilizada en suministro de agua ad-libitum. La válvula se introduce en la caja por una perforación en la misma, sin penetrar directamente en la caja pero lo suficientemente accesible para el animal.



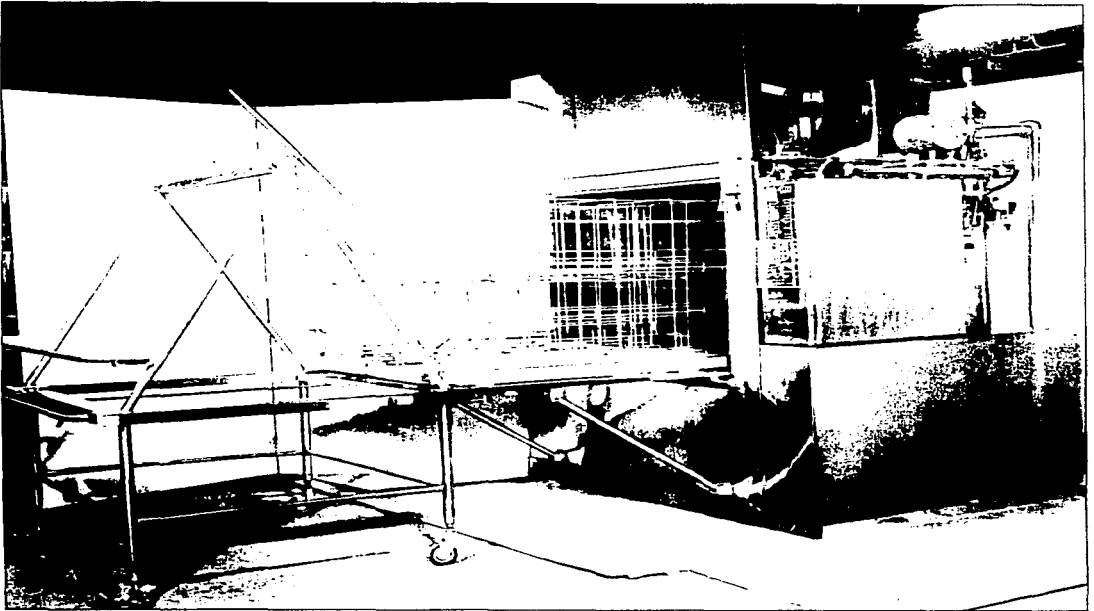


Figura 16.10 Máquina de lavado automático de cajas tipo gabinete, las cuales pueden tener una o dos puertas. Los modelos con dos puertas aumentan el saneamiento permitiendo que las cajas sucias se inserten por un lado y una vez lavadas salgan por el otro. Estas máquinas frecuentemente se construyen entre una pared con la entrada del lado sucio de la pared y la salida del lado limpio. El lavado, enjuague y secado puede regularse por el control de temperatura que se muestra sobre el lado derecho de esta unidad.



**Figura 16.11** Las básculas son utilizadas para preparar alimentos, sustancias que serán probadas, así como también para pesar a los animales. El modelo electrónico que presenta el platillo en la parte superior, es el más comúnmente utilizado en los laboratorios. Periódicamente se debe de calibrar con pesos establecidos, para asegurar el buen funcionamiento de la unidad.

## CAPITULO DIECISIETE

### LA HIGIENE EN EL BIOTERIO

Las diferencias entre esterilización, desinfección y sanitización refieren al grado de limpieza.

Esterilización, se refiere a la destrucción de todos los organismos sobre un objeto. Desinfección, se refiere a la reducción del número de microorganismos patógenos, sobre un objeto hasta un nivel inocuo. Saneamiento, se refiere a la reducción en el número de microorganismos sobre un objeto, hasta un nivel aceptable por las normas de salud pública establecidas.

La palabra sanitización refiere también a mantener un objeto estéticamente limpio.

#### ESTERILIZACION

Las autoclaves esterilizan los artículos por exposición a temperatura, humedad y presión prolongada. En comparación con otros métodos de esterilización, el autoclaveado es rápido, confiable y relativamente barato. Inclusive, evita el uso de sustancias químicas tóxicas. Para esterilizar un artículo, este debe ser autoclaveado por lo menos 15 min. a 121°C y 15 libras de presión por pulgada (psi). El número de microorganismos que pudieran contaminar un artículo, el tipo, tamaño y material para esterilizar, son determinantes para el tiempo de autoclaveado. Por ejemplo, se requiere tiempo extra para esterilización para esterilizar bolsas grandes de material de cama, cajas con nido, o instrumentos quirúrgicos muy bien envueltos. Las autoclaves están disponibles en diferentes tamaños y tipos para cumplir distintas necesidades. La mayoría tiene un mecanismo de regulación de la regulación del vapor y evacuación del mismo hacia el interior de la cámara. La alta presión es importante, esta permite al vapor que se sobrecaliente, lo cual significa que el calor irá a un punto más allá de la temperatura normal de 100°C a la presión atmosférica. El vapor sobrecalentado penetra artículos envueltos más fácilmente y favorece la esterilización (Fig. 17.1). Las autoclaves pueden ser peligrosas si no se les maneja adecuadamente. El técnico en animales de laboratorio debe aprender todo acerca de las particularidades de una máquina antes de empezar la esterilización.

Debido a la sensibilidad al calor, humedad y alta presión algunos equipos no pueden ser esterilizados por autoclaveado. Otro método aceptable de esterilización incluye el tratamiento con gas oxido etileno, esterilización por calor seco, irradiación gama y filtración de líquidos.

## DESINFECCION

Este es el proceso por medio del cual los organismos patógenos (pero no las esporas) son destruidos. La desinfección usualmente es demasiado fuerte para ser utilizada en animales vivos.

Los métodos de desinfección generalmente se clasifican de acuerdo al tipo de microorganismos contra el cual son efectivos. Un desinfectante que se describe con el sufijo "cida", significa que tiene la capacidad de matar microorganismos. Un desinfectante que tiene el sufijo "estático", significa que únicamente inhibe el crecimiento de los microorganismos. Un bacteriostático, por ejemplo evita el crecimiento de bacterias, pero no necesariamente las mata. Una sustancia bactericida mata las bacterias pero no necesariamente a sus esporas. Una sustancia esporicida mata a las esporas y a las bacterias.

Las sustancias químicas como los fenoles, hipoclorito de sodio (blanqueador), y los cuaternarios de amonio, se utilizan comúnmente para desinfectar objetos inanimados como pisos y equipo. El hipoclorito de sodio (blanqueador), tiene una capacidad desinfectante superior, debido a que mata muchos tipos de bacterias y virus, es barato y fácil de conseguir. Este producto debe utilizarse con mucho cuidado, ya que puede dañar tejidos delicados como los ojos. Los blanqueadores no contienen detergentes por lo que son efectivos cuando se utilizan sobre materia orgánica y detritus.

En el pasado los componentes fenólicos fueron desinfectantes muy populares, sin embargo se requieren altas concentraciones para producir el efecto deseado de desinfección. Por otra parte se ha encontrado que los gatos y algunos otros animales de laboratorio reaccionan adversamente al fenol. Los compuestos cuaternarios de amonio, son desinfectantes débiles a pesar de que estos pueden destruir membranas celulares de algunos tipos de microorganismos. Están disponibles como viricidas, algicidas o fungicidas. Los cuaternarios de amonio son menos efectivos cuando se mezclan con detergentes o jabones, debido a que ellos neutralizan su capacidad desinfectante.

## SANITIZACION

Este es el proceso por medio del cual, el número de bacterias y otros microorganismos vivos sobre objetos inanimados es reducido a un nivel preventivo de enfermedad. En el bioterio la sanitización incluye la rutina de limpieza de los artículos como pisos, cajas, paredes, comederos, lavabos, equipo de limpieza y mesas. El proceso de sanitización involucra la remoción de la suciedad, pelo, saliva, sangre, excremento y orina. Este método es seguido de un lavado con detergentes y un enjuague con sustancias químicas sanitizadoras o agua a una temperatura de 82°C.

La sanitización frecuente del equipo y cuartos de los animales es una práctica esencial. La contaminación microbiológica o química

debe de ser retirada por la limpieza y el equipo debe de ser monitoreado para evitar la presencia de sustancias peligrosas para la experimentación animal. Los desodorantes no pueden reemplazar un proceso adecuado de sanitización. La viruta de cedro fue utilizada durante muchos años en muchos bioterios, como un método desodorante para el material de cama.

Su uso fue detenido cuando se descubrió que los animales mantenidos en caja con esta viruta tenían niveles anormales de ciertas enzimas hepáticas. Esta alteración resultaba en un decremento de la efectividad de ciertos anestésicos. Los desodorantes, los insecticidas y los contaminantes químicos, frecuentemente producen alteraciones fisiológicas que alteran los resultados de las investigaciones.

#### **Cambio de Cajas**

De acuerdo con la Guía para el Cuidado de los Animales de Laboratorio de los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos, las cajas "deben de ser cambiadas tan frecuente como se requiera para mantener a los animales secos y limpios". Los bioterios que siguen estos estándares, generalmente cambian las cajas de piso sólido una o dos veces a la semana. La mayoría de las cajas suspendidas, con piso de rejilla se les cambia cuando menos una vez cada dos semanas. El número de animales alojado en una caja, el tamaño de la caja y el tipo de material de cama, son criterios importantes que deciden la frecuencia del cambio de cajas. En los animales grandes como perros, gatos y primates no humanos, la limpieza diaria y la sustitución o remoción del material de cama diariamente, es esencial. La Ley para el Bienestar de los Animales de los Estados Unidos establece el mínimo de cambio de cajas, comederos y botellas de agua que se deben utilizar para la mayor parte de las especies de animales de laboratorio.

#### **Cambio de Otros Equipos**

La sanitización frecuente de los anaqueles, comederos, dispositivos para dar agua y otras piezas de equipo, los mantiene libres de contaminación. Los anaqueles con cajas interconstruidas deben de lavarse al menos dos veces al mes. Los programas para los comederos dependen del número y tipo de animales que son alimentados y el tipo de alimento. Las botellas de agua, las válvulas de los bebederos automáticos y las pipetas, deben de ser revisadas diariamente para asegurar que están en funcionamiento. La sustitución diaria de las botellas del agua con botellas sanitizadas asegura que los animales tendrán siempre agua limpia, para satisfacer sus necesidades. Para evitar la contaminación cruzada, cada que se rellenan las botellas debe de colocarse la botella en la caja que le corresponde. Las botellas se deben de reemplazar una o dos veces por semana.

Los anaqueles que tiene dispositivos de bebederos automáticos necesitan una limpieza especial. Después de que se han limpiado los anaqueles, el sistema de tuberías del equipo debe de ser enjuagado

antes de conectar el rack a la línea de agua. Esto evita que sustancias químicas del proceso de desinfección se mantengan en el sistema de agua. Los anaqueles deben ser almacenados con todas las líneas de agua vacías para evitar la acumulación de depósitos en ellas.

#### **MONITOREO AMBIENTAL**

El monitoreo periódico del ambiente ayuda a evaluar el sistema de las técnicas de sanitización. Un método efectivo para determinar la limpieza del equipo recién lavado, es pasar un isopo estéril sobre una gran superficie del equipo. Después el isopo es llevado a un medio de cultivo que promueve el crecimiento bacteriano. Si el equipo fue lavado adecuadamente con los detergentes y las temperaturas que correspondían, el medio de cultivo se debe de mantener libre de crecimiento de bacterias patógenas.

Todas las máquinas de lavado de cajas deben de contar con indicadores de temperatura que garanticen su adecuado funcionamiento. Un método común de monitoreo de lavado y del uso de altas temperaturas, es el colocar una cinta de material plástico sensible al calor. El indicador se adhiere a la superficie del equipo que va a ser enviado a través del sistema de lavado. Cuando se retira la etiqueta del equipo y este fue sometido a altas temperaturas el material plástico del indicador cambia de apariencia. La temperatura del enjuague debe de alcanzar 82.2°C.

#### **TECNICAS DE LIMPIEZA DEL EQUIPO**

Las cajas y el equipo sucio deben de ser llevados al área de lavado para su limpieza. Las charolas y algunos otros equipos no deben de limpiarse a mano en el cuarto de los animales, ya que la limpieza a mano puede ocasionar que los microorganismos se conviertan en partículas suspendidas en el aire y por lo tanto contaminar el medio ambiente del cuarto.

En el lado sucio del área de lavado, las cajas y las charolas son vaciadas y talladas para dejarlas libres de material de cama, excremento y otros detritos. Si se aplica un desincrustante químico a las cajas, éste removerá los depósitos de orina. Una vez que se han removido los depósitos de orina, las cajas se colocan en el área de lavado para remover otros detritos que hubieran quedado o sustancias químicas y de esta manera sanitizarlas. Las cajas son reenzambadas, inspeccionadas y colocadas en un área de almacenamiento exclusiva para cajas limpias.

Los comederos deben ser desprovistos de depósitos de alimento no consumido, vaciados y tallados para dejarlos libres de detritus. Se les puede sumergir en una sustancia desinfectante antes de colocarlas en la máquina de lavado o de realizar el procedimiento de lavado. El tiempo adecuado de remojo en la sustancia química usualmente se describe en la etiqueta del líquido desinfectante.

Para lavar las botellas es posible que se necesite un cepillo que facilite el retirar depósitos del fondo de las mismas. Las botellas vacías se deben de colocar boca abajo sobre un anaquel especial dentro de la máquina de lavado. Una vez que se ha

realizado un enjuague manual, los tubos o pipetas de los bebederos deben lavarse en una caja o en una máquina de lavado tipo túnel. Para esterilizar el interior de estos tubos después del lavado es necesario meterlos al autoclave.

El equipo que es demasiado grande para introducirse en las máquinas de lavado, debe de lavarse antes de su utilización energicamente a mano, o con máquinas de presión utilizando detergentes, desinfectantes y enjuagues a temperaturas de más de 82.2°C. Los comederos y los contenedores del material de cama, siempre deben de estar limpios y desinfectados antes de rellenarlos. Se les debe de secar después de que se les ha limpiado para evitar el crecimiento de microorganismos debido a los depósitos de humedad o desechos dentro de los mismos.

#### LIMPIEZA DEL CUARTO DE LOS ANIMALES

La frecuencia con la que los cuartos de los animales deben de ser limpiados, dependen del tipo de animal alojado en el bioterio. Los lavabos deben de limpiarse y mantenerse libres de incrustaciones, así como también lavarse con jabón y secarse con toallas. Las ventanas y las puertas deben de limpiarse y mantenerse libres de polvo, pelo, plumas y otros detritus. Los depósitos de estos tipos de materiales en las ventilas, reducen la entrada y circulación del aire. Los contenedores de basura deben de tener bolsas de plástico y deben de ser vaciados frecuentemente. Así mismo deben de desinfectarse con regularidad. El cuarto de los animales, los almacenes y los corredores deben de limpiarse con los detergentes apropiados y desinfectarse tan frecuentemente como sea necesario para mantenerlos libres de polvo y otros contaminantes. Los cuartos de los animales deben ser vaciados, limpiados y desinfectados con base en un programa fijo, dependiendo de las especies que se alojen en ellos. La limpieza debe de incluir las paredes, techos, lámparas y cualquier otra superficie expuesta del cuarto.

#### CONTROL DE PLAGAS

Un edificio que ha sido construido adecuadamente y con un buen programa, es la mejor ayuda para controlar poblaciones de moscas, pulgas, cucarachas, garrapatas, roedores silvestres y otros animales indeseables. Estas criaturas pueden producir y diseminar enfermedades, introducir infecciones parasitarias contaminando el agua y el alimento, lo cual podría comprometer la validez de los resultados experimentales. Usualmente las plagas entran al bioterio con la comida, el material de cama, los humanos y otros animales. También pueden penetrar al edificio a través de cuarteaduras y pequeños orificios. El mantener las áreas de los animales higiénicamente limpias, el almacenar el alimento y material de cama adecuadamente, el mantener las puertas cerradas y periódicamente sellar cualquier cuarteadura, ayuda a evitar la penetración de las plagas. Estas precauciones también ayudan a limitar sus ciclos de reproducción. También ayuda a esto, el mantener las ventanas y las

puertas que dan al exterior cerradas. Los roedores silvestres que entran al bioterio deben ser capturados inmediatamente.

El uso de pesticidas en las áreas de los animales debe estar estrictamente controlado. Los investigadores deben de dar consentimiento para su uso, ya que los pesticidas pueden comprometer los resultados experimentales.

Los pesticidas deben de aplicarse únicamente por personas con experiencia. Estos productos químicos no deben de estar en contacto con los animales, su comida, el material de cama o el agua. Como parte de un programa de control completo, es posible considerar el uso de sustancias químicas inocuas, como puede ser el ácido bórico y las sales de silicatos amorfos, los cuales son utilizados en el control de infestaciones por cucarachas. En todos los casos se debe de seguir cuidadosamente las instrucciones del fabricante.

#### **SEGURIDAD E HIGIENE DEL PERSONAL**

Por su propia seguridad el personal del bioterio debe de seguir las normas de seguridad establecidas. Los técnicos deben de tomar la iniciativa en el aprendizaje acerca de los riesgos involucrados con su trabajo. El usar ropa protectora adecuada, el seguir buenos hábitos de higiene y el mantener un alto estándar de limpieza, evita riesgos innecesarios. El mantenerse uno limpio, así como mantener ordenadas las horas de trabajo, es una parte esencial de un buen programa de cuidados para los animales. Esto favorece la actitud de profesionalismo y facilita la implantación de los programas de higiene y sanitización.

#### **Ropa Protectora**

La ropa protectora y el equipo ayudan a prevenir el contacto con agentes infecciosos tóxicos y corrosivos. También protegen a los trabajadores de los extremos de temperatura y otros riesgos físicos. El tipo de ropa y equipo necesario depende de los procedimientos que se desarrollan. Por ejemplo, las personas que manejan primates no humanos, necesitan utilizar equipo protector como son guantes y máscaras resistentes a las mordeduras. El personal que utiliza ácidos y desincrustantes para las cajas, necesita usar lentes protectores, guantes y delantales. Por otro lado, aquellos que manejan roedores en un bioterio convencional es posible que no necesiten un equipo muy especializado. Algunos tipos de ropa protectora proporcionan mucho mayor comodidad que otros. Sin embargo la comodidad no es un factor decisivo en la selección de una ropa protectora.

**Zapatos:** El personal que trabaja sobre pisos húmedos debe utilizar botas de goma con suelas antiderrapantes y zapatos con protectores en la punta de los pies, para evitar lesiones por equipo que cayera sobre ellos. Los cubrezapatos desechables deben utilizarse para evitar cualquier posible contaminación cruzada en las áreas de animales libres de gérmenes, cuarentena o aislamiento. Los zapatos de trabajo deben utilizarse únicamente en el bioterio nunca deben utilizarse fuera de él o en casa.



**Protección de los oídos:** Los protectores de los oídos o tapones del canal auditivo, se recomiendan en aquellas áreas sumamente ruidosas (como el área de lavado de cajas), en las cuales el promedio del nivel de ruido es de 85 decibeles o mayor.

**Protección de ojos y cara:** Los lentes de seguridad, y mascarillas protectoras son útiles para evitar el contacto con objetos extraños o el salpicado de alguna sustancia corrosiva o tóxica.

Como regla, entre más protegida este la cara es mucho mejor la protección. Los bioterios también deben de contar con estaciones de lavados de ojos, sobre todo en aquellas áreas donde es posible que ocurran salpicaduras por sustancias químicas.

**Máscaras protectoras:** Las máscaras protectoras ceñidas estrechamente a la cara ayudan a evitar que el personal inhale contaminantes y protege a los animales de patógenos transportados por los seres humanos. Las máscaras también evitan que los trabajadores se toquen inadvertidamente la nariz o la boca con las manos contaminadas.

**Uniformes:** Debido al potencial de contaminación con microorganismos o sustancias tóxicas, las ropas de la calle no se deben utilizar mientras se trabaja en un bioterio. Así mismo los uniformes no deben ser utilizados fuera del bioterio. Muchos bioterios proporcionan a su personal uniformes y servicio de lavandería de uniformes. Estos protegen al personal y al medio ambiente externo del bioterio en contra de la contaminación. Los uniformes deben ser cambiados tan frecuentemente como sea necesario, para mantener una higiene personal apropiada. Los uniformes usados en áreas sujetas a la presencia de agentes microbianos riesgosos o sustancias tóxicas, deben de ser lo suficientemente durables para resistir el proceso continuo de descontaminación y de lavandería. En estas áreas es posible que sea más conveniente la utilización de material protector desechable.

**Los guantes:** El personal debe utilizar guantes cuando maneja soluciones de limpieza y cuando maneja sustancias potencialmente peligrosas o algún tipo en particular de animal. Los guantes de plástico o de goma son los más utilizados. El uso de los guantes evita el contacto con líquidos de los brazos y otras áreas. Los guantes de piel se utilizan para manejar animales que muerden o rasguñan (Fig. 17.2). Algunos guantes están reforzados con metal para proteger en contra de mordeduras. Los guantes resistentes al calor son utilizados para manejar artículos calientes, autoclaves, máquinas de lavado de cajas, o incluso el manejo de hielo seco. La gente con alergias de la piel a los animales, puede manejarlos siempre y cuando utilice guantes de plástico o de latex desechables.

#### **Procedimientos Adecuados de Higiene para el Personal**

Los buenos hábitos de higiene del personal son el primer paso en la prevención de daños o enfermedades ocupacionales. La gente que trabaja en un bioterio es sujeto de riesgos ocupacionales muy

específicos. Por ejemplo, ellos pueden contraer enfermedades o ser mordidos por animales. Algunas personas pueden tener o desarrollar alergias a los animales de laboratorio. El personal del laboratorio debe seguir los procedimientos que son relevantes a la naturaleza de la investigación en la cual están involucrados. A continuación se mencionan algunas medidas de seguridad típica y lineamientos de higiene personal:

1.- Almacenar y consumir alimentos, dulces, chicles y bebidas únicamente en áreas específicas bien delimitadas del bioterio.

2.- Los fumadores únicamente podrán hacerlo en las áreas específicamente designadas para esto, siempre lejos de los cuartos de experimentación y de otras personas.

3.- Mantener hábitos de limpieza como lavarse las manos, la boca, la nariz, los oídos, la cara y el pelo. Esto ayudará a evitar la autocontaminación del individuo.

4.- Mantener los artículos personales como batas, sombreros, sombrillas y otros aditamentos, en casilleros colocados en áreas específicas.

5.- Siempre lavarse las manos antes y al salir de los cuartos de los animales o del área de lavados de cajas.

6.- Lavarse las manos después de quitarse la bata u otra ropa protectora y antes de maquillarse, fumar o comer. No utilizar joyas sobre todo si estas interfieren con el lavado de las manos.

7.- Bañarse siempre en las áreas específicas y antes de ir a casa, siempre se deberá tomar un baño de regadera si se estuvo en contacto con animales de experimentación.

#### **Programa de Salud Ocupacional**

El programa de salud ocupacional es obligatorio para el personal que trabaja con animales de laboratorio o animales silvestres mantenidos en cautiverio. Los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos, recomiendan que se tomen muestras del suero del personal antes de tomar el empleo, durante el empleo y cuando esta a punto de retirarse del empleo. El personal debe de notificar inmediatamente a su supervisor de cualquier accidente, enfermedad poco usual, o de que sospeche haber estado en contacto con algún riesgo de salud. Los empleados de los bioterios se encuentran en un alto riesgo de adquirir enfermedades o lesiones provocadas por los animales, así como enfermedades zoonóticas. Los agentes zoonóticos son agentes infecciosos que pueden transmitir enfermedades de un animal a los seres humanos o también de los seres humanos a los animales. Por ejemplo los primates no humanos, así como los humanos son susceptibles a las enfermedades como tuberculosis (TB), sarampión y salmonelosis. Por lo que debe de tenerse especial precaución cuando se maneja a los primates no humanos. Algunos otros animales también son capaces de transmitir enfermedades zoonóticas. El personal que trabaja con primates no humanos corre más riesgo de exposición a TB que otros manejadores de animales. Todo el personal que maneja los animales debe de realizarse la

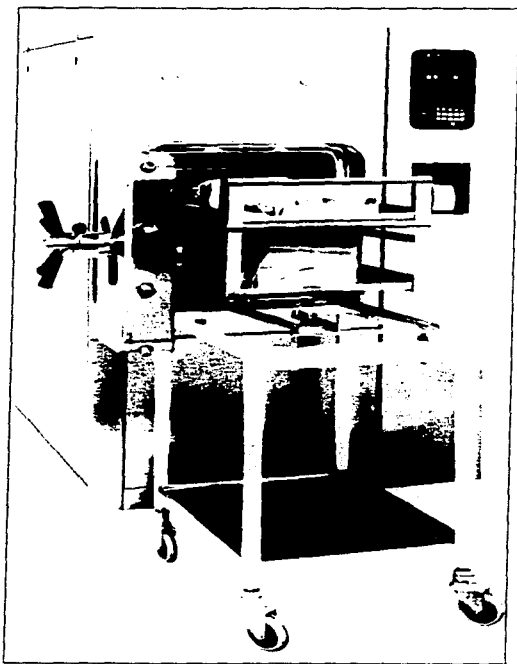
prueba de tuberculina regularmente, más aún cuando se manejen primates no humanos en el bioterio.

La adecuada inmunización del personal y la práctica de hábitos higiénicos, ayuda a prevenir la diseminación de enfermedades zoonóticas.

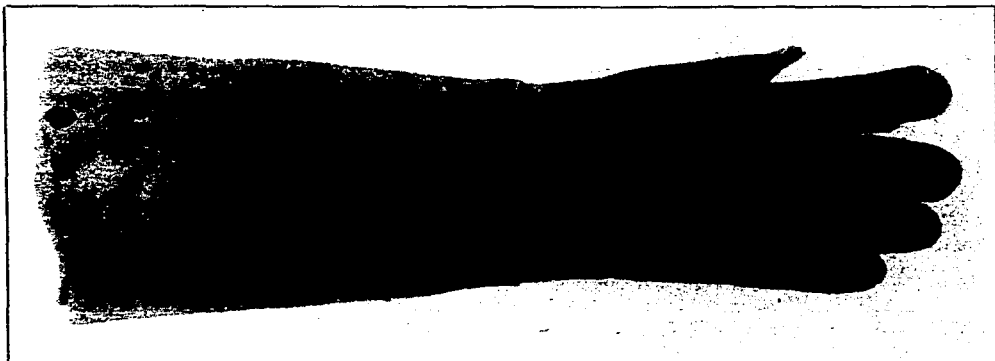
La inmunización es esencial para proteger al personal en contra de enfermedades debilitantes. Por ejemplo, la inmunización contra el tétanos debe administrarse a las personas que están en contacto con los desechos de los animales. El tétanos (mandíbula trabada) es una enfermedad causada por las esporas de una bacteria que tiene una distribución mundial en el medio ambiente y dentro de los animales. El personal que maneja a los animales o los limpia por lo tanto se encuentra expuesto a estas esporas. La infección se desarrolla después de la contaminación de una herida profunda, lo cual dificulta su limpieza por los métodos convencionales de lavado.

El personal que maneja animales silvestres o perros y gatos que provienen de la perrera municipal deben vacunarse contra la rabia. La rabia es una enfermedad que puede presentarse en cualquier mamífero, incluyendo perros, gatos, vacas y humanos. Cualquier persona que sea mordida por un animal debe inmediatamente lavarse la herida con agua y jabón y notificar al supervisor de la mordedura tan pronto como sea posible. Se debe reportar la localización de la mordida y el animal que lo mordió. Los animales no deben ser sacrificados hasta que no se haga una evaluación completa de la posibilidad de rabia.

Todos los tipos de lesiones o accidentes que ocurren en el bioterio deben de reportarse al supervisor, sin importar que insignificante sea la herida que se produjo. El conocimiento de estos accidentes o lesiones puede permitir la implementación de programas de prevención o el tratamiento de las enfermedades zoonóticas.



**Figura 17.1** Las máquinas autoclaves utilizan vapor a alta presión para esterilizar equipo, alimento y material de cama. Al igual que las máquinas de lavado de equipo tipo gabinete, las autoclaves pueden tener dos puertas, una hacia el lado sucio y otra hacia el lado limpio. Debido a que estas máquinas necesitan utilizar vapor a alta presión para alcanzar la temperatura de esterilización, el personal del bioterio debe tener mucho cuidado al manejar este tipo de equipo.



**Figura 17.2** Para el manejo de primates y gatos, es recomendable utilizar guantes de carnaza gruesos. Si bien estos guantes no garantizan protección en todas las circunstancias en que se utilicen, si proporcionan protección adicional en el caso de que falle la técnica de inmovilización o sujeción.

## **SALUD ANIMAL, SIGNOS DE ENFERMEDAD Y PREVENCIÓN DE LAS ENFERMEDADES**

El objetivo de los programas de cuidado de los animales de laboratorio es evitar cualquier problema de salud, de tal manera que los datos obtenidos de las investigaciones puedan ser lo más exacto posibles y obtenidos con la mínima cantidad de molestias y el menor número de animales posible. En forma ideal, estas metas se logran a través de la medicina preventiva y de los programas de cuidado de la colonia. Esta unidad contiene varios tópicos importantes que ayudarán al técnico en animales de laboratorio, a cumplir con su responsabilidad en conservar la salud de los animales. En el capítulo se cubren aspectos de la compra y la recepción de los animales, el aislamiento, los procedimientos de cuarentena y el diagnóstico y supervisión de la salud animal. La unidad también enfatiza los signos comunes de enfermedad en los animales, los cuales ayudan al técnico a desarrollar su habilidad para encontrar o identificar la presencia de una enfermedad, así como de otras amenazas hacia los programas de salud animal.

### **CAPÍTULO DIECIOCHO**

#### **OBTENCIÓN DE LOS ANIMALES**

Los bioterios en los cuales se realiza investigación biomédica, generalmente compran la mayor parte de los animales, a proveedores que se especializan en reproducir los animales para uso en investigación. Los primates no humanos, también frecuentemente vienen de vendedores que importan estos animales de otros países. Un sistema centralizado de adquisición de animales ayuda al director del bioterio a planear el espacio adecuado, equipo de alojamiento y suministros necesarios. De esta forma también se ayuda a designar el personal adecuado para el apropiado mantenimiento de los animales que han sido solicitados por la institución y el grupo de investigadores. Dado que la calidad de los animales varía dependiendo del proveedor, algunas instituciones restringen sus fuentes de suministro a aquellos vendedores que realizan programas de salud en sus animales, o que cuentan con un historial de alta calidad de los mismos.

Algunas instituciones producen sus propios animales de investigación. De esta manera se pueden obtener cepas que no existen en forma comercial o animales muy jóvenes que es necesario tenerlos de manera fácil y rápida para un estudio. La compra de animales a proveedores comerciales, sin embargo en términos generales es mucho más económica.

## LA TRANSPORTACION

Los proveedores embarcan la mayor parte de los animales por vía aérea, camiones de carga o una combinación de ambos. El tipo de transporte seleccionado, depende de la proximidad del bioterio. Algunos proveedores utilizan su propio equipo especializado, lo cual les permite en ellos proporcionar una transportación eficiente de los animales a diferentes áreas. En los Estados Unidos La Ley para el Bienestar Animal regula estrictamente la transportación de los animales de laboratorio. Esta ley originada en 1966 y enmendada varias veces desde entonces, especifica algunas de las características de los materiales con los cuales se embarcan las cajas, jaulas u otros contenedores. Se establece el tamaño estándar para los contenedores y se especifica el número de animales que pueden estar contenidos o presentes en una caja. También se establece que tan frecuentemente se debe proporcionar agua y comida a los animales durante el embarco y el rango de temperatura al cual pueden ser sometidos. Así mismo, la ley también establece que los contenedores de embarque deben tener adecuada ventilación y espacio suficiente que permita a los animales el que giren sobre si mismos y adopten posturas normales. Los proveedores confiables se esfuerzan por reducir el tiempo de transportación y el seguir todas estas indicaciones para disminuir el estrés en los animales.

La Ley para el Bienestar Animal de los Estados Unidos también especifica los estándares de temperatura, limpieza y ventilación en las terminales de carga donde los animales son mantenidos para su envío o recolección. Los bioterios pueden contratar compañías de transporte, recoger los animales enviados a las terminales o recibirlos directamente en la institución. Esto ahorra al bioterio el tiempo que se gasta en enviar los animales y el personal para recolectarlos. Los vehículos de entrega deben de contener clima controlado para proporcionar un bienestar adecuado a los animales.

Algunas especies de roedores de laboratorio así como de conejos deben de embarcarse en cajas de cartón resistentes que proyecten espaciadores a los lados para proporcionar adecuada ventilación y evitar que al juntarse las cajas se obstruya la misma. Los proveedores deben de proporcionar comida y alimento a estos animales durante el transporte. Algunos proveedores utilizan un objeto húmedo o humedecen el alimento para proporcionar agua a los roedores. Otros proveedores utilizan dispositivos sofisticados para el suministro de agua como son, bolsas desechables con pequeñas válvulas a través de las cuales los animales pueden beber el agua.

Las especies de animales grandes, como los perros y los gatos, pueden transportarse en vehículos especialmente diseñados, que contienen compartimientos para su transportación individual. También se les puede embarcar en cajas de fibra de vidrio o de aluminio, los cuales tienen comedero y bebedero. Los primates no humanos usualmente se embarcan en cajas de madera que tienen grandes hendiduras o ventanas, para una adecuada ventilación y observación.

## CONDICION MICROBIOLOGICA

Se concideran cuatro tipos de animales de laboratorio en base a su estado microbiológico.

### Animales convencionales

Son aquellos en los cuales se desconocen los microorganismos y el número de los mismos. Estos animales se mantienen en cuartos abiertos o sin sistema de barrera. Normalmente lo que se requiere para mantener estos animales es únicamente cajas, material de cama, alimento y prácticas de cuidado. Algunos criadores pueden sin embargo, mantener animales con una cierta calidad microbiológica o variedad de limpieza generalmente para un uso más específico. Estos animales son referidos como animales gnotobióticos o libres de patógenos específicos. La presencia o ausencia de los microorganismos debe de ser determinada por pruebas de diagnóstico o de laboratorio (Fig. 18.1).

### Animales Libres de Gérmenes

Los animales libres de gérmenes también son conocidos como axénicos y no presentan bacterias, virus u otro microorganismo detectable por los métodos convencionales. Estos animales son reproducidos y mantenidos en un ambiente completamente estéril.

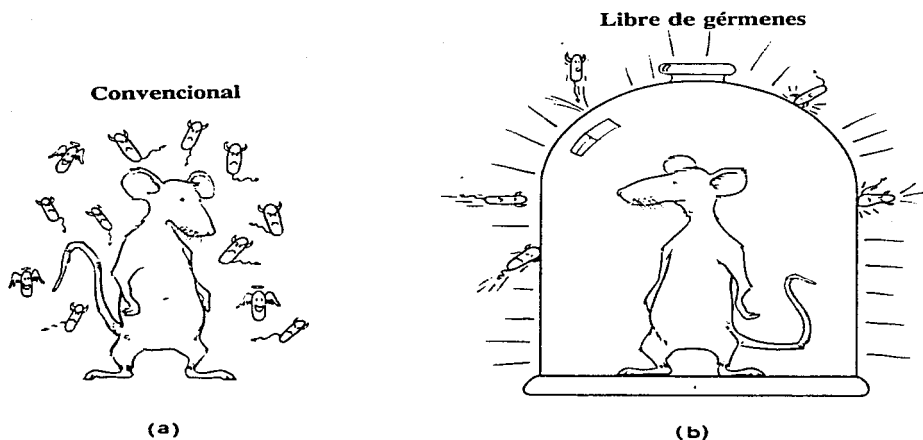
### Animales Gnotobióticos

Los animales de flora definida (FD) o gnotobióticos son animales desprovistos de la mayor parte de flora. Generalmente se le suministra por vía oral variedades específicas de bacterias no patógenas. Estas bacterias ayudan a solucionar los problemas del tracto digestivo que ocurren en los animales libres de gérmenes. Los animales FD deben de ser alojados y manejados, así como transportados de manera aséptica para prevenir la introducción de microorganismos indeseables en su cuerpo. Los bioterios que mantienen este tipo de animales deben de contar con sistemas que excluyan la entrada de microorganismos indeseables poniendo barreras específicas dentro de las instalaciones.

### Animales Libres de Patógenos Específicos

Los animales libres de patógenos Específicos (SPF) deben ser cuidadosamente vigilados para asegurar que no presentan ciertos patógenos o enfermedades producidas por microorganismos. Usualmente estos animales se mantienen en bioterios con barreras. Es importante conocer cuales son los microorganismos de los cuales están libres estos animales antes de introducirlos en un bioterio, sobre todo cuando se tienen estatus de salud diferente.





**Figura 18.1** Los animales mantenidos en condiciones convencionales (a) están expuestos a numerosos microbios presentes en el medio ambiente, algunos de los cuales no son dañinos y proveen o facilitan la digestión. Otros, sin embargo pueden ser dañinos y causan enfermedades. Los animales libres de gérmenes (b) se mantienen bajo condiciones que evitan el contacto con microorganismos del medio ambiente circundante.

## RECEPCION Y EXAMEN FISICO DE LOS ANIMALES

Se debe contar en el bioterio con un área específica y aislada para la recepción de animales nuevos. La persona que recibe el embarque debe observar y anotar las condiciones en que han sido transportadas las cajas. Esta persona debe de comparar las ordenes de compra con las facturas o notas de envío para confirmar que los animales que arriban, son los que normalmente se solicitaron. Esta persona también debe confirmar que el embarque está completo (el número completo de cajas y de animales). Una vez que el embarque ha sido aceptado, los animales son transportados dentro de sus cajas hacia un cuarto específico con ambiente controlado. En este cuarto los animales deben ser examinados inmediatamente.

La examinación puede ser algo elaborado o breve, esto dependerá de la fuente de donde provienen los animales, así como de los programas de salud o de control que se tengan en el bioterio. Primero, el contenido de cada caja debe ser comparado con la información que aparece en la etiqueta que se encuentra en la parte externa del embarque, se debe confirmar el sexo, el número, el peso y el tipo de animales. Si existe un error, el proveedor, el supervisor del bioterio y el investigador serán notificados inmediatamente. Antes de colocar los animales en las cajas, deben de ser examinados buscando señas como pérdida de peso, heridas, diarrea, presencia de secreciones, o alguna otra anomalía aparente. Se debe anotar inmediatamente en los registros la cepa o raza, la edad, el proveedor y el número total de animales que se recibieron. Algunos bioterios pueden requerir anotar además, el peso corporal y el color de la capa de pelo, así como cualquier otra característica particular que se requiera anotar en los registros. La presencia de peso bajo puede significar deshidratación o un error en el embarque. Las variaciones con respecto de las condiciones esperadas deben de ser notificadas al investigador y al responsable del bioterio. Los animales muertos también deben de ser anotados y los cadáveres deben de ser eliminados o enviados a diagnóstico para determinar la causa de la muerte. Es importante que los animales no permanezcan en sus cajas de embarque por un tiempo mayor del necesario. Si el examen físico es completo y no se observó ningún problema a su arribo, los animales pueden ser rápidamente transferidos de su embarque a las cajas del bioterio. Después los animales son mantenidos en el cuarto de cuarentena o de acondicionamiento.

## CUARENTENA Y ACONDICIONAMIENTO

Los animales recién llegados necesitan tiempo para recobrase del estrés que les produjo el embarque y el transporte, así como un proceso de aclimatación a su nuevo ambiente. Este tiempo permite al personal del bioterio evaluar el estado de salud de los animales.

El período de cuarentena es un período de aislamiento y de intensa evaluación de salud. Esta puede variar de pocos días a varios meses dependiendo de la especie y de los procedimientos del bioterio. Durante este período no se deben realizar procedimientos experimentales en estos animales. La mayor parte de los programas de cuarentena son el tiempo de prueba del estado de salud, de evaluar los valores fisiológicos basales, vacunar y prevenir enfermedades de los animales. La observación de los signos de enfermedad son hechos a través del período de cuarentena. Debido a que el estatus de enfermedad de los animales en cuarentena no se conoce, el técnico de animales de laboratorio debe de tener cuidado por la salud de los animales que ya existen en el bioterio y por lo tanto debe de atenderlos antes que a los animales en cuarentena. La cuarentena puede realizarse en un cuarto especial diseñado para este propósito, o en un cuarto donde los animales van a ser mantenidos permanentemente. Después que el período de cuarentena a pasado y no se presento ningún signo de enfermedad, un período de acondicionamiento debe de iniciarse. Algunos bioterios conducen parte de este programa de acondicionamiento simultáneamente con el programa de cuarentena. (Fig. 18.2).

El período de aclimatación o acondicionamiento de un grupo de animales, se refiere a su adaptación al lugar donde son colocados, iluminación, temperatura, ruido, manejo y otras condiciones físicas que experimentarán los animales durante el proceso de investigación. El período de acondicionamiento llega a reducir el estrés que podría de otra manera provocar alteraciones en el resultado durante el proceso experimental. Los animales estresados secretan altas cantidades de hormonas, especialmente de aquellas que se producen por la glándula adrenal. Esto puede producir grandes efectos sobre los valores fisiológicos normales, como pueden ser cambios en los valores hematológicos (sangre) y bioquímicos del suero. Eventualmente estos cambios pueden producir resultados erróneos en la investigación.

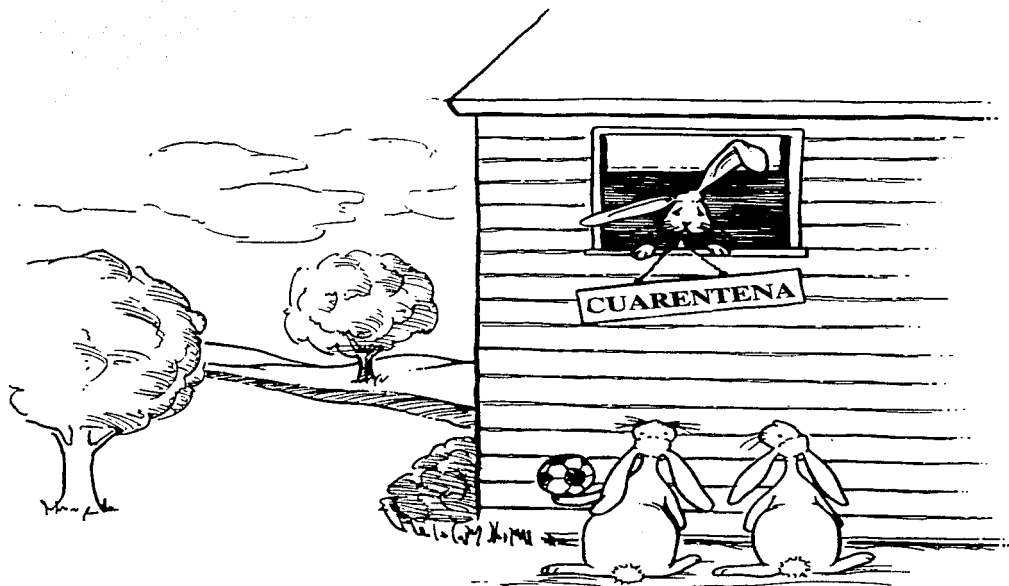
#### **MANTENIMIENTO DEL ESTADO DE SALUD**

Una vez que los animales han completado exitosamente el período de cuarentena y de acondicionamiento, el técnico en animales de laboratorio debe vigilar y preocuparse por mantener ese estado de salud dentro de los límites planeados para ese experimento. El bioterio debe contar con un programa que vigile y constate el estado de salud de los animales. Este programa debe contemplar la revisión periódica de los programas de salud de los proveedores para asegurar que el proveedor esta entregando animales de la calidad requerida al bioterio.

Este programa combina la información de las pruebas diagnósticas con las pruebas de parasitología, microbiología, serológicas y examen patológico con las observaciones clínicas. La frecuencia con que se realizan las pruebas diagnósticas depende de la fuente de los animales, de la especie, de las necesidades del investigador,

así como también de los fondos disponibles por los programas de salud o del investigador para este propósito.

En un programa típico de aseguramiento de la calidad de los roedores, generalmente se toman varios animales al azar de diferentes embarques. Se realiza la necropsia y varias pruebas diagnósticas de laboratorio. Se deben de mantener siempre registros de los resultados de cada uno de los tipos de animales suministrados por cada vendedor o proveedor del bioterio. El registro de constatación de calidad debe de contener los datos de la fecha de suministro por el proveedor y la información relacionada con el estado de salud de los animales suministrados. Este tipo de vigilancia, usualmente detecta problemas de salud relacionados con una especie en particular o con un proveedor en particular.



**Figura 18.2** Los programas de cuarentena ayudan a asegurar que los nuevos animales que llegan al bioterio no son portadores de enfermedades que pudieran afectar a la colonia, causando a los animales sufrimiento. Las pruebas diagnósticas y la cuidadosa observación de los animales aislados, son los principales componentes de un buen programa de cuarentena.

## CAPITULO DIECINUEVE

### ESTADO DE SALUD ANIMAL Y ENFERMEDAD

Los estudios experimentales no pueden iniciarse adecuadamente o tener un éxito completo cuando se usan animales enfermos. La principal función del personal del bioterio es el mantener los animales de investigación saludables. Prácticamente cualquier persona del bioterio debe estar orientada a reducir la posibilidad de ocurrencia de enfermedades en el mismo. El personal técnico del bioterio debe estar consciente de los cuidados de los animales, así como de ejecutar los procedimientos especificados sin realizar alteraciones de los mismos. El personal del bioterio debe de vigilar el ambiente de los animales y reportar cualquier cambio que pudiera dar oportunidad a la presentación de enfermedad. Así mismo ellos reconocerán y reportarán cualquier signo de enfermedad o anormalidad en los animales bajo su cuidado. Los animales que mueren deben de ser reportados tan pronto como sea posible, de tal manera que sea posible realizar la necropsia y evaluar esta situación por el investigador.

#### IDENTIFICACION DE ENFERMEDAD

A pesar de todos los cuidados que se tienen en los bioterios llegan a presentarse enfermedades. Los bioterios albergan a cientos y a veces miles de animales. Entre más animales se alberguen, mayor es la posibilidad de la presentación de una enfermedad contagiosa y que esta se disemine, esto es a pesar de tener animales alojados en jaulas individuales y sin sobrepoblación. Los técnicos deben de desarrollar la habilidad de detectar las enfermedades. Esto es, ellos deben de hacer todo lo que este a su alcance y todo lo que sea necesario para prevenir la diseminación de una enfermedad hacia los animales sanos. Al mismo tiempo ellos deben de tomar las medidas adecuadas para contener una enfermedad de un animal en particular.

El mantener animales que padecen una enfermedad contagiosa es un riesgo de diseminación de la enfermedad para otros animales. Bajo estas circunstancias o si la enfermedad excluye un animal de un proyecto o causa una molestia a él, la eutanasia puede ser la única alternativa humana que exista. El retirar un animal del bioterio puede salvar las vidas de otros. Es la responsabilidad del personal veterinario el evaluar si esta situación se presenta.

Los técnicos en animales de laboratorio son muy importantes en el mantenimiento de los programas de salud del bioterio. Su principal responsabilidad radica en seguir los procedimientos diseñados para proporcionar limpieza y ambiente saludable en el bioterio. Ellos son la primera línea de defensa en la identificación y el reporte de cualquier cosa que vaya mal. Cada mañana el técnico de animales de laboratorio debe observar cada

animal bajo su cuidado. No es necesario que manejen cada animal diariamente, pero deben de checar o revisar los signos comunes de enfermedad.

Los animales que se encuentren muertos deben de reportarse inmediatamente, de esta manera los datos observados a través de sus tejidos podrán ser obtenidos antes de que se descompongan. Los animales que muestran signos de enfermedad deben de ser reportados también inmediatamente al personal veterinario para que los aisle y los estudie, así como también se debe notificar al investigador y se deben de iniciar las pruebas diagnósticas o el tratamiento.

Cuando se cuenta en el bioterio con registros sistemáticos se pueden tener datos importantes sobre la historia clínica de una especie animal en particular. El personal veterinario junto con los supervisores debe determinar cual es el tipo de información que el técnico en animales de laboratorio debe mantener de cada animal. Mínimamente se debe de contar con los registros acerca de la fecha de arribo del animal, la fuente o proveedor de los animales, la cepa o banco genético y los nombres, números telefónicos y localización de los investigadores responsables. Los registros también deben de incluir toda la información que pudiera tener un efecto sobre la salud de los animales o de alguna otra manera afectar los resultados del estudio experimental. Por ejemplo el registro debe incluir:

- 1.- Vacunación y registro de peso.
- 2.- Exposición a otros animales.
- 3.- Historia ambiental, incluyendo temperatura, ventilación y problemas del aire acondicionado.
- 4.- Enfermedades previas y terapias aplicadas.
- 5.- Tratamientos experimentales.
- 6.- Registros reproductivos.

La mayor parte de los bioterios, tienen procedimientos regulares para el reporte de enfermedades o de problemas. Los técnicos en animales de laboratorio deben aprender como seguir estos procedimientos de operación y utilizarlos en su bioterio.

Entre más pronto un problema es reportado, existen mayores oportunidades de corregir este y de que afecte a otros animales del mismo cuarto. Todo aquel personal que haya tenido contacto con animales enfermos debe ser notificado. El inmediato aislamiento de los animales es esencial, sobre todo si se trata de enfermedades contagiosas.

La responsabilidad del jefe para reconocer enfermedades o animales muertos descansa sobre los técnicos asignados a un grupo particular de animales. Ellos deben de reportar cualquier problema o condición que sientan que no es normal. El esperar hasta que un problema se hace completamente evidente puede comprometer un experimento o provocar que se cancele. Los técnicos en animales de laboratorio deben de reportar cualquier cosa que los haga sentir incómodos con respecto al bienestar de los animales bajo su cargo.

En los bioterios muy grandes se designa al técnico más experimentado o a un veterinario como el técnico en salud. Este técnico retira a los animales enfermos y realiza las observaciones detalladas de aquellos que están enfermos.

Ellos registran la información e informan al investigador o al director del bioterio de los problemas.

Las opciones de diagnóstico y tratamiento pueden entonces planearse por el médico veterinario encargado del bioterio y por el investigador que está usando los animales. El tratamiento se iniciará o se sacrificará humanamente a los animales para prevenir la diseminación de la enfermedad.

Una más cuidadosa inspección del estado de salud de los animales se puede realizar cuando estos son cambiados de cajas. Dado que el técnico en animales de laboratorio debe manejar cada animal es usualmente conveniente en este momento el pesarlos, vigilar su conformación corporal, observar la presencia de diarrea, ectoparásitos o cualquier otra anomalía.

Los procesos de manipulación que son parte del protocolo experimental pueden también producir enfermedad en los animales. Los técnicos deben de reportar la presencia de animales enfermos o comportamiento anormal cuando ellos sienten que el experimento ha sido el que ha ocasionado esta situación. Esta información generalmente es de mucha ayuda para el investigador. Si un animal parece que está sufriendo o tiene dolor, incluso si esto se debe al proceso experimental, debe notificarse inmediatamente al director del bioterio o al médico veterinario responsable.

#### **SIGNOS DE ENFERMEDAD**

Dado que los animales no se quejan de la manera que lo hacen los humanos cuando no se sienten bien, a veces resulta difícil para el técnico determinar cuando un animal de laboratorio está enfermo. Los técnicos en animales de laboratorio deben aprender a observar los signos de enfermedad. Por ejemplo cuando un perro tiene un pedazo de vidrio en una de sus patas, el siente un síntoma de dolor. Los técnicos en animales ven este signo de dolor, el animal puede arrastrar la pata afectada, quejarse si presiona al piso con esta pata o puede estar cojeando o evitar el caminar. Otros signos de daño o lesión pueden ser menos obvios. El técnico en animales de laboratorio debe aprender lo que es normal para la especie o para el animal individual antes de reconocer que es lo anormal. Un técnico de animales de laboratorio competente rápidamente aprende a observar la conducta de los animales y utilizar estas observaciones para identificar a un animal enfermo (Fig. 19.1).





**Figura 19.1** Los animales enfermos generalmente tienen apariencia delgada y emaciación, adoptan posiciones encorvadas, tienen el pelo opaco, desaliñado y no quieren comer, beber o incluso moverse.

Los signos descritos en la lista que a continuación se presenta están asociados con enfermedad. Los técnicos en animales de laboratorio deben de aprender a identificar estos signos y reportarlos al personal del bioterio que tiene la responsabilidad del programa de salud. Dependiendo de como opere el bioterio, esto puede ser al investigador, a un técnico en animales de laboratorio, supervisor, al técnico de salud animal o al médico veterinario. Estos signos deben de ser cuidadosamente valorados y aprendidos de tal manera que el técnico en animales de laboratorio pueda comunicar adecuadamente a otros que es lo que observó. Cuando se ven, cada signo debe ser relacionado con un sistema anatómico o parte afectada del animal. El actuar así permitirá posteriormente al técnico en animales de laboratorio aprender más de algunas enfermedades específicas de los animales de laboratorio.

1.- Alopecia: Se refiere a áreas del cuerpo en las cuales se ha perdido el pelo y la piel está expuesta. La alopecia generalmente está asociada con enfermedades de la piel. Esto también está asociado con inflamación o irritación, peleas y rasurado (una forma de comportamiento en el cual el animal dominante muerde y rasura el pelo de los animales subordinados).

2.- Anemia: Situación en la cual las membranas mucosas están pálidas. Las encías y las conjuntivas tienen una apariencia blanca en lugar del color rosado de la normal. En animales anémicos el numero de eritrocitos (células sanguíneas rojas) se encuentra reducido. Esto puede estar ocasionado por sangrados internos, fallas en la producción de eritrocitos o por una rápida destrucción de los mismos.

3.- Anorexia: Es la falta de apetito. Los contenedores de alimento permanecen llenos y el animal no tiene o produce poco excremento. El apetito disminuido puede ser el resultado de alguna enfermedad en cualquier parte del cuerpo. Los animales que no beben debido a un sistema de bebederos inadecuado o al mal funcionamiento de estos, también dejan de comer.

4.- Sangrado: Se refiere a la presencia de sangre fresca en la caja o sobre el animal. El sangrado puede presentarse externamente alrededor de un colmillo o de la piel dañada del animal, así como también internamente por la ruptura de un órgano como puede ser la vejiga urinaria o el útero. La presencia de heces color oscuro puede indicar sangrado en el estómago o en el intestino delgado. La fuente de el sangrado debe de identificarse (ver "anemia"). Debe recordarse que el sangrado vaginal es normal en algunas hembras durante algunas etapas del ciclo reproductivo.

5.- Caminar en circulo o con la cabeza de lado: Los animales caminan en circulo o con la cabeza de lado generalmente cuando tienen una infección en el oído medio o interno.

6.- Constipación: Los animales no producen excremento. Este desorden gastrointestinal puede ser ocasionado por falta de alimento o agua, ingestión de pelo, una infección seria, u otro tipo de problemas.

7.- Tos: Se refiere a la rápida expulsión de aire a través de la boca. Esto usualmente indica un problema en la garganta o los pulmones.

8.- Diarrea: Los animales evacuan agua o excremento muy acuoso. El excremento acuoso frecuentemente mancha el área bajo la cola, así como alrededor del ano (el perineo).

9.- Descargas: La excesiva secreción de sustancias acuosas a través de las aperturas naturales como son oído, nariz, ojos o vagina son signos de un sin número de enfermedades incluyendo infecciones.

10.- Disnea: Es la dificultad para respirar. Una respiración rápida o trabajosa es un signo común de neumonía (infección de los pulmones).

11.- Indiferencia: Es la carencia o falta de alerta en los animales. Los animales parece que están cansados y no quieren moverse. Los animales que sufren infecciones o dolor pueden actuar de esta manera letárgica.

12.- Parálisis: Es la incapacidad para moverse ya sea completamente o partes del cuerpo. La parálisis usualmente es el resultado de lesiones que ocasionan daños a los nervios o de enfermedades que afectan el sistema nervioso central.

13.- Prolapso: Es la protusión de un órgano interno a través de alguna apertura corporal normal. El prolapso del recto o de la vagina es lo más común. Esto es ocasionado por un sobre esfuerzo durante la defecación (eliminación de las heces) o durante el parto (dar a luz).

14.- Prurito: Se refiere al rascado frecuente o constante, usualmente para buscar el alivio a una irritación de la piel, ocasionada por parásitos externos o infecciones. La piel aparece seca y con escoriaciones, así como también de color rojizo y tumefacta.

15.- Erizamiento del pelo: La apariencia del pelo opaco, apelmazado e irregular, puede ser el resultado de deficiencias vitamínicas, presencia de parásitos internos o externos, infección severa u otros tipos de enfermedades.

16.- Estornudo: Se refiere a la rápida y forzada expulsión de aire a través de la nariz. Esto usualmente es un signo de irritación nasal. La presencia de burbujas o el frotamiento con las manos de la nariz o alrededor de la nariz puede ser indicativo de infecciones respiratorias.

17.- Retraso en el desarrollo: Se refiere cuando los animales parecen ser mucho más pequeños de lo que son otros de la misma especie, cepa y edad (redrojo). El retraso en el desarrollo puede ser hereditario o puede ser ocasionado por infecciones, parásitos o desnutrición.

18.- Tumores: Son cualquier crecimiento anormal, hinchamiento o abultamiento. Los tumores pueden ser tanto benignos (de lento crecimiento y no invasivos) o cancerosos (de rápido crecimiento e invasivos). Cualquier hinchamiento anormal, incluso un absceso

(colección de pus), causado por bacterias es también un tipo de tumor.

19.- Vómito: Es el paso de contenido gástrico a través de la boca. Esto usualmente es un signo de que el animal tiene una infección o una irritación en el estómago o la garganta. La indigestión o la presencia de alimento parcialmente digerido sobre el piso de la caja significa que los animales han vomitado. El vómito es común en los gatos y perros, pero poco común en los roedores y los rumiantes. Las ratas y los caballos carecen completamente de la habilidad para vomitar.

20.- Pérdida de peso: Es una disminución en la masa corporal. La pérdida de peso frecuentemente se asocia con la incapacidad para comer, presencia de parásitos o con una enfermedad severa debilitante.

Es esencial que el médico reconozca y reporte la presencia de estos signos. Para una fácil comunicación, los términos científicos de estos signos deben de utilizarse tanto como sea posible.

#### CAUSAS DE ENFERMEDAD

El técnico en animales de laboratorio debe de estar alerta no únicamente por los signos obvios que producen enfermedad, si no también por aquellas enfermedades que producen cambios muy sutiles. Los últimos son denominados estados clínicos. Estos cambios difíciles de detectar, pueden producir alteraciones fisiológicas en respuesta a una enfermedad más que a una manipulación experimental. Esto puede ocasionar la invalidación del experimento. Las enfermedades son causadas por factores ambientales, desbalances nutricionales, anomalías genéticas, microbios, parásitos, anomalías congénitas y factores desconocidos.

Los factores ambientales, nutricionales y genéticos se discutieron previamente en otras unidades de esta sección. Estas pueden ser revisadas aquí pero el énfasis será puesto sobre otras causas de enfermedad.

#### Factores Ambientales

Un control del medio ambiente apropiado por parte del técnico en animales de laboratorio es crítico para el bienestar de los animales en investigación. Estos factores afectan la habilidad de los animales para ser utilizados en experimentación. Los técnicos deben siempre de corregir y notificar cualquier problema ambiental que se presente. Se debe de tener particular atención a:

1.- Temperatura: Los cuartos de los animales que son demasiado calientes, muy fríos o con corrientes de aire, tener variaciones de temperatura tan grandes que ocasionen estrés en los animales.

2.- Humedad: La humedad relativa de 30% a 70% es comfortable para la mayoría de los animales en investigación.

3.- Ruido: Los animales responden a ruidos excesivos en una variedad de mecanismos negativos.

4.- Densidad de población: Se deben determinar institucionales que especifiquen cuantos animales deben mantenerse confortablemente y de manera legal en una caja especifica o tipo de caja de las presentes en el bioterio.

5.- Iluminación: Los animales se acostumbran a los procesos de iluminación diaria; por ejemplo 12hrs. de luz y 12hrs. de obscuridad.

6.- Intercambio de aire: Los cuartos con pobre intercambio de aire usualmente apestan o huelen a amoníaco.

7.- Contaminantes: Muchos tipos de contaminantes pueden afectar a los animales de laboratorio. Por ejemplo aire, agua, material de cama, cajas y especialmente la dieta que puede contener microorganismos o sustancias químicas dañinas.

### **Nutrición**

Las dietas que existen comercialmente para alimentar animales de laboratorio, generalmente cumplen con los requerimientos nutricionales. Existe un cierto número de enfermedades que están asociadas con problemas en la dieta y deben de reportarse cuando se observen.

### **Constitución Genética**

Las diferencias genéticas entre los animales pueden afectar su susceptibilidad a ciertas enfermedades, reacción a ciertas drogas o su respuesta a una variedad de condiciones experimentales.

### **Factores Microbiológicos**

Una gran variedad de microbios o microorganismos (organismos pequeños como las bacterias y los virus), afectan la salud animal (Tabla 19.1). La mayoría no causa enfermedad pero algunos de estos los llamados microorganismos patógenos, entran al animal ya sea por el aire, la comida, o lesiones en la piel. Una vez dentro, el hospedador animal sirve como una fuente de nutrientes para estos microorganismos. Los animales infectados pueden o no mostrar signos de enfermedad.

Los animales expuestos a una enfermedad ocasionada por organismos, usualmente producen anticuerpos especificos en su suero en contra de este microorganismo. Estos pueden ser identificados incluso después que los signos de enfermedad hayan desaparecido. La presencia de estos anticuerpos es una herramienta útil del diagnóstico para evaluar los antecedentes clínicos y el estado de salud de los animales nuevos que llegan a la colonia. La presencia de estos anticuerpos también ayudan a evaluar la efectividad del programa de barreras dentro del bioterio.

Un sistema para evaluar la salud de los animales de la colonia es el uso de animales centinela. Estos son animales sanos, los cuales son colocados en varias secciones del bioterio y

frecuentemente son vigilados para observar signos de enfermedad. Si un animal centinela se enferma o muestra cambios en su estado de salud, esta señal es indicadora de que un problema en esa sección del bioterio esta ocurriendo. El problema puede ser detectado con prontitud, incluso antes de que se disemine a través del bioterio o en toda la población de animales. Periódicamente los animales centinelas son sacrificados para examinarse utilizando las mismas técnicas y procedimientos señalados en el análisis de control de calidad, esto es la serología, microbiología, parasitología y patología.

Tabla 19.1 Comparación de algunas propiedades de los organismos productores de enfermedad.

Tipo de organismo	Tamaño	Motilidad	Presencia o ausencia de núcleo	Presencia de pared celular	multi-celular
Virus	Submicroscopico	No	No	No	No
Bacteria	Microscopico	Algo	No	Si	No pero puede presentarse en grupos
Hongos	Microscopico	No No	Si Si	Si Si	No pero puede presentarse en grupos
Protozoarios	Microscopico	Algo	Si	No	No
Helmin- tos	Macroscopico	Si	Si	No	Si
Artrópodos	Macroscopico	Si	Si	No	Si
	Reproducción Sexual		Ejemplo de Grupo		Ejemplo de Enfermedad
Virus			Paramyxovirus		Distemper Canino
Bacterias	No		<i>Staphylococcus aureus</i>		Enfermedades e infecciones de la piel
Hongos	No		<i>Microsporium spp.</i>		Cola anillada
Protozoarios	No		<i>Eimeria stiedae</i>		Coccidiosis hepática del conejo
Helmin- tos	Si		<i>Syphacia obvelata</i>		Gusano alfiler de los roedores
Artrópodos	Si		<i>Sarcoptes scabiei</i>		Sarna

Las enfermedades causadas por varios tipos de microorganismos patógenos frecuentemente muestran signos clínicos que pueden ser observados. Es importante considerar que incluso sin la presencia de signos clínicos, una enfermedad puede afectar los resultados de la experimentación.

#### **Parásitos**

Los parásitos son organismos que viven dentro o sobre los animales y se nutren del hospedador. Los parásitos unicelulares denominados protozoarios, son microorganismos muy pequeños y por lo tanto no pueden ser vistos con el ojo desnudo. La mayoría de los parásitos, sin embargo, son multicelulares y se les puede ver con el ojo desnudo. Cuando existe un número suficientemente grande de parásitos, estos pueden ocasionar enfermedad e incluso la muerte del hospedador. En la mayor parte de los casos existe una relación una relación subclínica con el hospedador. Este tipo de relación sin embargo puede alterar los datos experimentales. Algunos signos que los animales pueden tener cuando están parasitados son diarrea, vómito, anemia, rascado o enrojecimiento con descamación de la piel. La presencia de estos signos debe ser inmediatamente reportada al supervisor.

Existen muchas técnicas disponibles para ayudar a evaluar la presencia o ausencia de parásitos en algunos animales. Algunos tipos de parásitos pueden observarse en el excremento, algunos sobre la piel y algunos otros en la sangre. Los huevos de los parásitos pueden específicamente identificarse en el excremento u otro tipo de muestras. Con base en los resultados diagnósticos se debe de elegir un programa de tratamiento y de prevención.

#### **Factores Congénitos**

Las enfermedades congénitas se refieren a anomalías presentes al nacimiento. Estas pueden ser resultado de desordenes genéticos o de una afección adquirida por la hembra (la madre) durante la gestación. También pueden ser resultado de factores ambientales como radiaciones, sustancias químicas o drogas administradas a la hembra gestante. Los defectos congénitos que más frecuentemente se observan son aquellos que afectan al sistema esquelético y cardiovascular, pero virtualmente cualquier sistema fisiológico puede ser afectado.

#### **Enfermedades Multifactoriales**

Las causas de algunas enfermedades no pueden clasificarse en algunos de los grupos mencionados hasta ahorita. Es frecuente que ocurra la sobreposición de causas y efectos. Por ejemplo, los microorganismos que generalmente no causan problemas en animales sanos, pueden ser capaces de infectar animales con baja resistencia debido al protocolo de investigación o a algún problema ambiental o nutricional.

Existen otro tipo de enfermedades a las cuales se puede enfrentar el técnico en animales de laboratorio. Frecuentemente se



pueden observar en animales mantenidos en grupos como los roedores o los primates no humanos, lesiones producidas por los compañeros de jaula cuando pelean. También es posible observar la presencia de alergias como respuesta al proceso de inmunización experimental. En estos casos lo que se observa es algo similar a la inflamación localizada o generalizada, que presentan las personas en respuestas a vacunaciones, administración de antibióticos o mordeduras por insectos. También pueden existir en prácticamente cualquier especie de laboratorio la presencia de enfermedades metabólicas raras. Estas enfermedades metabólicas pueden tener una base genética y usualmente involucran algún proceso patológico en particular. Una caída repentina en los niveles de glucosa o de calcio por ejemplo sugieren la presencia de una enfermedad metabólica.

Algunas enfermedades no pueden ser fácilmente clasificadas. El técnico de animales de laboratorio que trabaja con investigadores que estudian cáncer, puede observar animales con tumores producidos experimentalmente o de manera espontánea. Cuando se trabaja con diferentes tipos de animales y sus problemas de enfermedad, los técnicos en animales de laboratorio deben sentirse con la suficiente confianza para preguntar cualquier cosa que consideren importante. Ellos deben tratar de aprender tanto como les sea posible de las personas más experimentadas que trabajan en el bioterio.

#### **TRANSMISION DE ENFERMEDADES**

En un bioterio las enfermedades infecciosas pueden pasarse de un animal a otro por un gran número de formas. Las enfermedades son transmitidas directamente de un animal a otro. También pueden ser transmitidas a través de la gente que trabaja con los animales o por los instrumentos y el equipo de limpieza que se utiliza. Es por lo tanto imperativo que el técnico en animales de laboratorio este prevenido de el papel potencial que tiene, tanto para causar como para prevenir la diseminación de enfermedades.

Las enfermedades infecciosas (aquellas causadas por microorganismos patógenos) son fácilmente transmisibles de un animal a otro. Cuando organismos vivos como los mosquitos, las moscas, o incluso los técnicos transportan o acarean microorganismos capaces de producir enfermedad se les denomina vectores. Los vectores mecánicos son aquellos que transmiten una enfermedad por contacto directo con animales infectados y lo pasan a animales sanos, sin que ellos jueguen en si un papel en el ciclo de vida del microorganismo. Los vectores biológicos son aquellos que si juegan un papel en la vida del ciclo de los microorganismos, por ejemplo los mosquitos y el gusano del corazón. Los materiales inanimados pueden ser la causa de la transmisión de enfermedad. Estos materiales se les denomina fomites.

Si una enfermedad infecciosa es fácilmente transmitida directamente de un animal infectado a un animal sano, se dice entonces que esta es contagiosa. Si un gato con una enfermedad

contagiosa por ejemplo, es retirado de su jaula y se coloca a un nuevo gato en esta jaula antes de que esta sea lavada, el segundo gato muy probablemente se infectará. En este caso las jaulas actúan como fomites para los microorganismos causantes de enfermedad. Sin embargo también el técnico en animales de laboratorio que no limpió apropiadamente la jaula, es también la causa de que una enfermedad se haya diseminado. Las enfermedades infecciosas pueden ser transmitidas a través de guantes, trapeadores, escobas, zapatos, cajas, material de cama, alimento, aire, agua y otra gran variedad de fomites.

El técnico en animales de laboratorio debe de familiarizarse con los procedimientos de operación de su bioterio. Ellos deben de efectuar estos procedimientos tal y como han sido diseñados. La rotación de cajas y de los programas de trabajo, así como el manejo de los animales, su alimentación y la preparación de agua, son técnicas que están diseñadas para disminuir la transferencia de enfermedades contagiosas de un animal a otro. Las enfermedades no infecciosas no son transmitidas por vectores, por fomites o de animal a animal. Muchas de estas enfermedades son hereditarias. Algunos animales por ejemplo, tienen genes que causan desordenes en su coagulación. Sus cuerpos están programados genéticamente para desarrollar estas enfermedades. Otros pueden estar predispuestos para cierto tipo de enfermedades no infecciosas, como puede ser la alergia a la penicilina. En estos casos, sin embargo, la exposición a la droga puede ocurrir antes de que el animal desarrolle la enfermedad.

Si bien el técnico en animales de laboratorio no es el responsable de las alteraciones hereditarias, él es responsable por los aspectos ambientales en la prevención de las enfermedades. Muchas enfermedades no infecciosas pueden desarrollarse bajo ciertas condiciones ambientales o nutricionales. Por ejemplo, escorbuto en los cobayos y los primates es ocasionado por una deficiencia de vitamina "C" en la dieta.

#### **PREVENCIÓN DE ENFERMEDADES**

La mayor parte de los procedimientos de operación en un bioterio están diseñados para reducir el peligro de la transmisión de enfermedades. Por ejemplo, el personal debe utilizar guantes limpios y debe lavarse después de trabajar con un grupo de animales. Los roedores pequeños pueden ser manejados con pinzas que se desinfectan previamente a su uso. El aire que penetra al bioterio debe ser completamente fresco o filtrado para evitar la contaminación con microorganismos transportados por el aire. Las cajas deben ser adecuadamente sanitizadas con detergente, desinfectante y/o esterilización y lavado con agua al menos a 82.2°C.

Los animales enfermos no deben de permanecer en contacto con los animales sanos. La separación de los animales enfermos de los otros animales se denomina aislamiento. Las áreas de aislamiento deben de ser preferentemente cuartos que estén remotamente situados. Como se mencionó en el capítulo anterior, los animales recién llegados deben de ser mantenidos aparte de los que ya están en el bioterio por un período de cuarentena, éste de acuerdo a las especies y a los procedimientos de operación del bioterio.

Es importante determinar la causa de la enfermedad que existe en un animal muerto o enfermo. Este es un procedimiento que se refiere como diagnóstico y es la responsabilidad del veterinario del bioterio. La identificación de la enfermedad por la historia clínica, signos y síntomas, generalmente requiere de la realización de ciertas pruebas especiales, las cuales incluyen:

1.- Microbiología: Cultivo de sangre o de otros fluidos corporales para detectar la presencia de ciertos microorganismos.

2.- Hematología: Evaluación de los tipos y números de células sanguíneas.

3.- Química sanguínea: Análisis bioquímico del suero.

4.- Inmunología (immuno-serología): Es la caracterización de las funciones y el estatus (presencia o ausencia de anticuerpos específicos) del sistema inmune.

5.- Parasitología: Es la identificación de parásitos internos o externos.

6.- Patología: Es la revisión macroscópica de las alteraciones celulares.

El exámen y disección de los animales muertos es denominado necropsia. Después de un examen visual se recolectan secciones de los órganos y se les procesa para su examen microscópico por el patólogo. Los patólogos pueden frecuentemente identificar o asociar ciertos tipos de cambios tisulares con enfermedad. Generalmente son dos las aproximaciones que se utilizan en los laboratorios de diagnóstico para determinar el problema de salud de un ser vivo. Uno es el crecimiento del microorganismo causante de enfermedad. El otro es buscar en el suero los anticuerpos. Para poder hacer crecer los microorganismos, hay que tomar muestras de tejidos y de los fluidos corporales del animal y colocarlos en cultivos con nutrientes para su crecimiento e identificación. Con base en la forma, características de tinción, requerimientos nutricionales y productos del metabolismo, las bacterias y otros microorganismos pueden identificarse. En algunos casos si el animal se ha recuperado de la enfermedad, se puede identificar ésta buscando anticuerpos. Esta identificación es muy útil cuando se determina que es lo que ocasionó un problema anterior. Y también ayuda en el establecimiento de los programas de constatación de calidad o de evaluación de centinelas.

Las infecciones microbianas generalmente inducen la producción de anticuerpos por el hospedador. Esta respuesta es uno de los mecanismos de defensa del hospedador. Se le identifica por pruebas de diagnóstico de inmunología específicas para un solo tipo de microorganismo. Por lo general la causa del problema puede ser diagnosticada en el laboratorio, si se combinan las pruebas de diagnóstico y los signos clínicos observados.

Todos los animales que mueren, particularmente aquellos que estuvieron enfermos antes de morir, deben de retirarse del cuarto de los animales tan pronto como la muerte haya ocurrido. El cadáver debe de colocarse en una bolsa a prueba de agua y sellarse, la tarjeta de identificación de la caja del animal u otra identificación debe de ser adherida a esta bolsa. Los cadáveres deben de hacerse llegar al departamento de patología del bioterio, o al investigador para su evaluación. La mayor parte de los cadáveres generalmente serán quemados en un incinerador de desechos patológicos. Los animales muertos no deben de ser desechados con los materiales de desechos no infecciosos del bioterio. Preferentemente debe de evitarse que estos cadáveres pasen por el procedimiento normal de desechos. De esta manera se evitará la transmisión de ciertas enfermedades animales a los seres humanos.

Para reducir la oportunidad de diseminación de una enfermedad, el técnico en animales de laboratorio debe mantener su área con características de "hospital limpio". Los técnicos en animales de laboratorio deben recordar que la calidad sanitaria y el cuidado proporcionado a los animales es una parte crítica del programa de prevención de enfermedades.

## CAPITULO VEINTE

### QUIMIOTERAPIA Y ENFERMEDADES COMUNES DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO

Los animales de laboratorio están sujetos a muchas enfermedades y condiciones, algunas de las cuales son tratables con medicamentos. El estudio de los efectos de las drogas sobre los sistemas orgánicos en varias especies animales se conoce como farmacología.

#### TIPOS DE MEDICAMENTOS

La siguiente lista se refiere a los medicamentos generalmente utilizados y sus aplicaciones:

1.- Analgésicos: Estas sustancias alivian el dolor. Ejemplo de esta clase de sustancias son, ácido acetyl salicilico (aspirina), acetaminofén (tylenol), fentanil y fentazocina. Los analgésicos son clasificados como narcóticos (adictivos) o no narcóticos.

2.- Anestésicos: Estas sustancias también eliminan el dolor. La mayoría de los anestésicos generales producen la inconsciencia del animal. Ejemplo de anestésicos generales son: el metoxifluorano (Metofan), halotano (Fluotane), ketamina, pentobarbital y algunos barbitúricos relacionados. Algunos anestésicos no producen inconsciencia. Estos afectan únicamente áreas localizadas y por lo tanto se les llama anestésicos locales.

3.- Antibióticos: Estas sustancias matan o evitan la reproducción de microorganismos patógenos sobre o dentro del animal. Por ejemplo, la penicilina, la sulfametoxina y otros medicamentos del tipo de las sulfas, tetraciclina y eritromicina.

4.- Sustancias anti-inflamatorias: Estos medicamentos comúnmente son utilizados para reducir la comezón y la inflamación ocasionada por las alergias o irritantes externos. Así mismo también son útiles para revertir ciertos estados de choque. También se les utiliza para prevenir o reducir la presencia de tejido fibroso (cicatriz) u otros efectos negativos del proceso inflamatorio. La cortisona y las sustancias relacionadas también conocidas como esteroides son los anti-inflamatorios más comunmente utilizados.

5.- Antiparasitarios: Estos medicamentos matan los parásitos, ya sea dentro o sobre el animal hospedero. Los parásitos obtienen su nutrición y protección del hospedador. Existen varias clases de sustancias antiparasitarias.

a) Antihelmínticos: Estos medicamentos eliminan una gran variedad de parásitos internos. Por ejemplo, el tiabendazol, la piperazina, la ivermectina y la niclosamida.

b) Insecticidas: Estas sustancias químicas matan parásitos que infestan la piel o el pelaje de los animales de laboratorio.

Están disponibles como sprays, líquidos, polvos, líquidos para inmersión, cintas de plástico impregnadas y otras presentaciones. El diclorvos, el carvaryl, las piretrinas y otros compuestos del tipo de los organofosforados son ejemplos de insecticidas comúnmente utilizados en los animales de laboratorio.

c) Antiprotozoarios: Estas drogas matan a los protozoarios en el tracto intestinal, así como en otros órganos. Elmetronidazol es una de las sustancias antiprotozoarias más utilizadas.

6.- Antipiréticos: Estos medicamentos reducen la fiebre (incremento de la temperatura corporal) ocasionada por infecciones. Muchos de estos compuestos también poseen propiedades analgésicas. Frecuentemente se utilizan sustancias antipiréticas como la aspirina, la butazolidina y el acetaminofén. Esta última es una droga que tiene más de un uso (ver el número 1 anterior).

7.- Tranquilizantes: Estos medicamentos calman y sedan a los animales excitados. Los tranquilizantes se utilizan antes de la administración de los anestésicos para reducir la cantidad de anestesia total requerida para producir analgesia. La acepromazina, el diazepam (valium) y la xilazina son algunos de los tranquilizantes comúnmente utilizados en los animales de laboratorio.

#### 8.- Drogas misceláneas

a) Drogas antagonistas: Estas sustancias contrarrestan el efecto de otra sustancia. El naloxane, por ejemplo revierte los efectos de los narcóticos. El sulfato de atropina contra ataca algunos de los efectos tóxicos de los insecticidas organofosforados. La vitamina K antagoniza la pérdida de capacidad de coagulación producida por la ingestión accidental de un rodenticida como la warfarina.

b) Vitaminas: Estas sustancias son necesarias en pequeñas cantidades para el apropiado funcionamiento de muchas reacciones bioquímicas internas. Se puede encontrar mayor información sobre las funciones de las vitaminas y los signos de deficiencias en el capítulo de Nutrición de esta sección del manual.

Es importante recordar que mientras las drogas tienen efectos benéficos, también pueden tener efectos secundarios que pueden afectar los resultados de la investigación. Por esta razón la mayor parte de los programas de salud de los animales de laboratorio están enfocados en la prevención de enfermedades y no a tratarlas. La decisión de administrar medicamentos para animales en investigación, debe de involucrar la consulta del veterinario y del investigador.

**MÉTODOS DE DOSIFICACION DE DROGAS**

Las drogas usualmente se administran a los animales de laboratorio por alguno de los siguientes métodos:

1.- Inhalación: Algunos anestésicos pueden ser inhalados como vapores o como gases. Los vasos sanguíneos en los pulmones absorben los anestésicos vaporizados y los transportan al cerebro, donde ocurre su acción primaria. En algunas infecciones respiratorias, aquellas drogas capaces de disolver las secreciones se pueden administrar como vapores inhalados.

2.- Tópico: Las drogas o sustancias químicas se pueden administrar directamente en los ojos, oídos, piel o pelaje. La administración tópica está disponible como crema, sustancias oleosas, sustancias acuosas, tinturas, polvos y atomizadores.

3.- Oral: Las drogas pueden mezclarse en el alimento o agua de bebida o administrarse directamente en la boca. Estas pueden ser instaladas dentro del esófago o estómago por medio de una aguja o un tubo de plástico. Este proceso es denominado sondeo (Fig. 20.1).

4.- Rectal: Las drogas pueden incorporarse dentro de supositorios para su inserción dentro del recto de los animales grandes, tal es el caso de los perros, gatos o primates no humanos. Las drogas se disuelven y son absorbidas en el cuerpo a través de las membranas mucosas hacia los vasos sanguíneos que se encuentran en el recto.

5.- Parenteral: Este término se refiere a la administración de drogas por medio de otros métodos que no son a través del aparato gastrointestinal. Las técnicas parenterales permiten que las drogas entren a la corriente sanguínea, más directamente de lo que lo harían a través del aparato gastrointestinal o a través de la piel por una aplicación tópica. La selección de la técnica depende de la velocidad con la cual se requiere se absorba la droga. Se requiere de cierta habilidad técnica para su uso, ya que se necesitan conocer los tejidos y el volumen que debe ser inyectado.

a) Intramuscular (IM): Las drogas son inyectadas en las masas musculares mayores, donde son absorbidas en los vasos sanguíneos musculares alrededor del sitio de inyección.

b) Intravenosa (IV): La droga se inyecta directamente en los vasos mayores, donde es transportada directamente al torrente sanguíneo.

c) Subcutánea (SC): La droga es inyectada en el área localizada entre la piel y la capa de tejido que rodea a los músculos.

d) Intradermal (ID): La droga es inyectada dentro de la lámina dermal de la piel. La absorción de la sustancia depositada en este sitio es lenta.

e) Intraperitoneal (IP): En este caso la droga es inyectada dentro de la cavidad abdominal, por lo que se debe de tener mucho cuidado de evitar inyecciones accidentales de la droga dentro de órganos internos, ya que de esta forma se evitaría que alcanzará el torrente sanguíneo. La inyección intraperitoneal es comúnmente utilizada en roedores, los cuales carecen de masas musculares o de vasos sanguíneos, en los cuales pueda administrarse directamente la droga.

f) Intracardiaca (IC): Esta vía de administración raramente se utiliza, en su caso la droga es administrada directamente al corazón. Esta técnica se utiliza cuando la droga debe ser administrada rápidamente por ejemplo, para corregir una condición que amenaza la vida del animal. En el caso de la inyección intracardiaca, existe el riesgo de que el pericardio que rodea el corazón pueda ser lacerado, esto pudiera causar la muerte del animal por hemorragia.

#### TRATAMIENTO Y MANEJO DE REGISTRO DE ENFERMEDADES

El técnico de animales de laboratorio debe mantener un registro exacto de cualquier condición anormal o de conducta de los animales bajo su responsabilidad. Ellos también deben de llevar un registro exacto de las drogas administradas en forma terapéutica. Este tipo de registros deben de ayudar a facilitar al supervisor y a los veterinarios los planes y estrategias para tratar las condiciones anormales o prevenir la presencia de brotes de enfermedad. Esto también ayuda al investigador a interpretar y analizar los resultados de su investigación.

Con el propósito de iniciar los registros de salud, los animales deben ser identificados. Los animales del tamaño de los conejos o mayores, pueden tener una identificación única. El número puede imprimirse sobre un arete, un collar o puede ser tatuado sobre el animal. En los embarques de roedores, todos los animales pueden identificarse individualmente de manera permanente a través del tatuaje, la perforación de las orejas o el corte de los dedos. Los números de las cajas o las identificaciones individuales pueden marcarse directamente sobre el animal. Los animales pueden identificarse temporalmente utilizando patrones de rasurado, tintas de colores o marcadores de colores.

Un registro detallado y exacto debe de mantenerse con el propósito de observar e identificar los eventos que permiten el diagnóstico y el tratamiento. Este tipo de registros es denominado historia (Fig. 20.2).



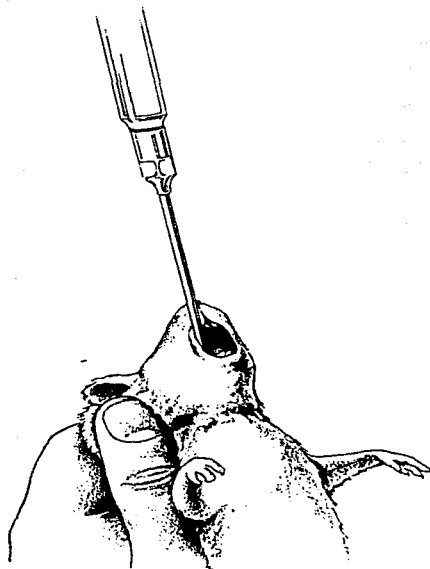


Figura 20.1. El sondeo es seguro y es un método efectivo de dosificación oral el cual asegura que el animal recibe un tratamiento terapéutico o experimental apropiado.

## RESUMEN DEL ESTADO DE SALUD DEL ANIMAL

ESPECIE _____	VENDEDOR _____
TATUAJE _____	FECH. RECEP _____
SEXO _____	CASO _____
EDAD _____	FECH. SALIDA _____
PESO _____	FECH. MUERTE _____
INVESTIGADOR _____	JAULA _____

PRUEBAS DE TUBERCULOSIS					
FECHA	RESULTADOS	FECHA	RESULTADOS	FECHA	RESULTADOS

EXAMEN FISICO	
FECHA	OBSERVACIONES

EXAMEN FECAL/RECTAL		
FECHA	RESULTADOS FECALES	RESULTADOS RECTALES

EXAMEN SEROLOGICO	
FECHA	RESULTADOS

PROTOCOLO EXPERIMENTAL	
FECHA	PROCEDIMIENTOS

PROCEDIMIENTOS QUIRURGICOS (REVISAR EL ANEXO PARA VALORACION DE ANESTESIA Y CUIDADOS POSTOPERATORIOS)	
FECHA	PROCEDIMIENTO QUIRURGICO

PRUEBAS ADICIONALES	
FECHA	PROCEDIMIENTOS REALIZADOS

FIGURA 20.2 Hoja típica de registro de salud de los animales, la cual contiene una gran cantidad de información. La historia médica de los animales es frecuentemente una parte esencial de un programa apropiado de salud, el cual puede ser utilizado incluso años después de que los datos fueran registrados.

El contenido de la historia solo se basa en datos concisos. La interpretación personal como, el animal era normal o el animal tenía una infección bacteriana, nunca debe ser utilizada sin datos específicos que apoyen estos términos. Una historia aceptable podría ser, "El animal estaba indiferente, tenía temperatura de 39.8°C y su cultivo sanguíneo era positivo para *Streptococos*."

#### ENFERMEDADES DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO

Existen muchas enfermedades que afectan específicamente a los animales de laboratorio. Algunas tienen la prevalencia en particular en alguna especie pero también causan síntomas similares de enfermedad en otras especies de animales de laboratorio. El énfasis en este texto introductorio no está sobre enfermedades específicas y las especies que ellas afectan. Por el contrario, se basa en la descripción y los signos que comúnmente se observan en varios problemas de enfermedad no importando cual sea su causa.

Algunos bioterios tienen una colonia de animales de laboratorio con un problema en particular de salud. Los técnicos en animales de laboratorio en cada bioterio deben de revisar estos problemas comunes de salud junto con el veterinario. Los signos los tratamientos y procedimientos reportados deben de revisarse para asegurar que todos estos problemas comunes puedan ser identificados rápidamente y proporcionarles el tratamiento adecuado.

Se sugiere que los técnicos en animales de laboratorio novatos, se enfoquen sobre los siguientes problemas de salud general y sus signos asociados (el número que aparece al final de cada problema que se describe se refiere a los 20 signos específicos de enfermedad que aparecen en el capítulo 19 de esta sección):

- 1.- Desordenes de la piel causados por trauma, microbios o infestaciones con parásitos externos. (1,14,15).
- 2.- Enfermedades respiratorias causadas por bacterias o agentes virales (7,9,11,16,20).
- 3.- Enfermedades gastrointestinales comúnmente asociadas con parásitos, toxinas, químicos e infecciones microbianas (3,6,8,13,17,19,20).
- 4.- Trauma físico, frecuentemente resultado de peleas con animales o accidentes (2,4,9,12).
- 5.- Disturbios metabólicos ocasionados por factores genéticos, problemas nutricionales, sustancias tóxicas u otros factores menos obvios (3,11,12,17,20).

## TECNICAS QUIRURGICAS Y EXPERIMENTALES

Las primeras unidades de esta sección se enfocaron a orientar al técnico sobre el cuidado, el medio ambiente y la ciencia básica. Estas últimas unidades están orientadas a los procedimientos de investigación que involucran animales de laboratorio. Comúnmente estos procedimientos son desarrollados y vigilados por el técnico en animales de laboratorio. También se presenta en esta unidad una descripción de los métodos más comunes de investigación con los cuales estará en contacto el técnico en animales de laboratorio durante el desarrollo de su trabajo.

### CAPITULO VEINTIUNO CIRUGIA

El protocolo experimental frecuentemente requiere de procedimientos quirúrgicos. La limpieza y el alivio del dolor son dos factores a considerar de prioridad durante y después de un proceso quirúrgico. Algunos procedimientos quirúrgicos pueden ser realizados exitosamente utilizando técnicas asépticas en un ambiente limpio. Otros procedimientos requieren instalaciones de tipo hospital. Este capítulo introduce al técnico en animales novato, en la importancia de ciertas técnicas particulares e instrumental utilizado durante los procedimientos quirúrgicos experimentales y los cuidados post-quirúrgicos.

#### FUNCION DE LA SALA DE OPERACIONES

Se requieren varios grados de limpieza para diferentes técnicas quirúrgicas dependiendo del tipo de cirugía, la especie que se utilice y la planeación del experimento. Los procedimientos quirúrgicos estériles, así como las instalaciones son necesarios para realizar operaciones en conejos y animales mayores, los cuales se espera se recobren de las cirugías que penetran cavidad abdominal u ocasionan una inhabilitación permanente post-quirúrgica.

#### Sanitización

Existen varios términos relacionados para describir un ambiente quirúrgico y de sanitización de ese ambiente.

**Esterilización y Asepsia:** La esterilización es un estado por medio del cual se eliminan microorganismos existentes. La asepsia, por otro lado es una situación en la cual se eliminan microorganismos productores de enfermedad (patógenos). Las técnicas asépticas evitan la introducción de estos organismos y de las enfermedades que producen. La asepsia quirúrgica se refiere a la

práctica durante la cirugía para mantener los objetos y áreas libres de microorganismos. Es esencial que las técnicas quirúrgicas o procedimientos médicos se lleven a cabo con fidelidad y conciencia.

Todos los equipos utilizados en el suministro quirúrgico o entrando al área de operación quirúrgica deben de ser estériles. Los detalles de esterilización están descritos en la cuarta unidad del capítulo 17 de esta sección.

**Antisepsia:** Existen sustancias que destruyen o inhiben el crecimiento de microorganismos y pueden ser utilizados en los tejidos vivos. Cuando la tintura de yodo, por ejemplo, es utilizada sobre la piel, ésta es en forma de antiséptico.

**Contaminación:** Es el proceso en el cual algo permanece sin lavar o sin esterilizar. En cirugía se consideran áreas contaminadas aquellas que son tocadas por objetos no estériles.

#### **Sala de Operaciones**

Si el técnico en animales de laboratorio es miembro del equipo quirúrgico, entonces debe de estar consciente de que muchos procedimientos requieren de mantener las condiciones asépticas. Para asegurar las condiciones asépticas durante la cirugía, el cirujano y el asistente deben de ser cuidadosos para prepararse así mismos y al paciente. La preparación del instrumental, el equipo y la sala de quirófano, así como también el personal y el paciente tienen un nivel de importancia igual en su preparación, dado que cualquiera de ellos puede servir como una fuente de contaminación. La principal intención de la asepsia durante la cirugía es el evitar la contaminación. Los procedimientos preventivos de contaminación son los siguientes:

- 1.- Preparación aséptica de todo el equipo quirúrgico.
- 2.- Limpieza y desinfección de la sala de operaciones.
- 3.- Esterilización del material e instrumental quirúrgico.
- 4.- Preparación del sitio de incisión y colocación de campos.

La prevención de infecciones también incluye aspectos de la técnica quirúrgica, las cuales son responsabilidad del cirujano, por ejemplo, el manejo delicado de los tejidos y el apropiado uso de materiales quirúrgicos y técnicas de sutura.

#### **Instrumental Quirúrgicos**

EL instrumental quirúrgicos es utilizado por el cirujano para cortar, sostener y reparar los tejidos animales. EL buen instrumental quirúrgico es caro y puede deteriorarse rápidamente si es mal utilizado. El técnico en animales de laboratorio debe de conocer que instrumental es el más utilizado para los diferentes tipos de cirugía y como se le debe de limpiar y preparar para su uso (Fig. 21.1).

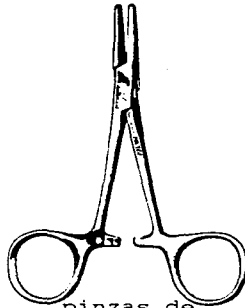
**Fórceps:** Estas son pinzas que tienen dos brazos unidos en un extremo. Los fórceps o pinzas son utilizados para comprimir o

sujetar tejidos. Los fórceps o pinzas de pulgar y las pinzas de hemostasis, son ejemplos típicos de estos instrumentos. Las pinzas de hemostasis ayudan a comprimir los tejidos, especialmente los vasos sanguíneos para detener el sangrado (hemostasis). Estos instrumentos tienen unos brazos largos y curvos con asas de anillos y existen en diferentes tamaños. Las pinzas tienen un propósito general y sirven para sujetar los tejidos sin que estos se escapen o dañen. Existe una gran variedad de este tipo de pinzas, las hay de diferente tamaño y tipo de sierra en sus puntas.

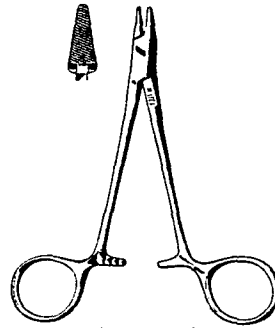
Porta agujas: Estas son pinzas similares a las de hemostasis pero sirven para sujetar las agujas. Estas presentan puntas romas y están disponibles en varios tamaños.



Pinzas para  
pulgares o  
forceps para  
tejidos



pinzas de  
hemostasis



porta-agujas



semicurva traumática



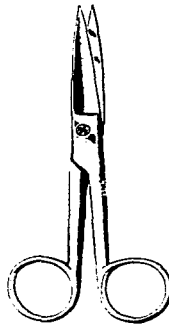
medio círculo  
traumática



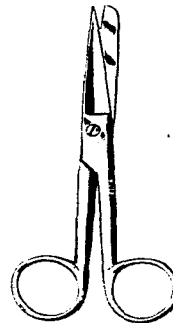
3/8 de círculo  
traumática



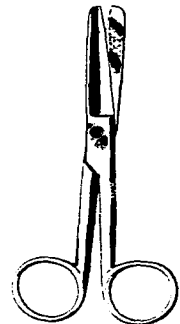
3/8 de círculo  
atraumática



tijeras  
punta/punta



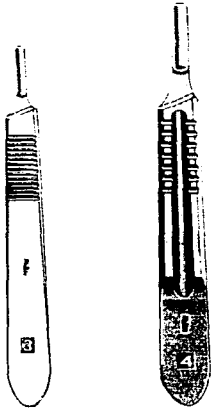
tijeras  
punta/roma



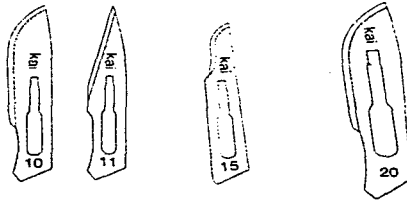
tijeras  
roma

#### Agujas quirúrgicas

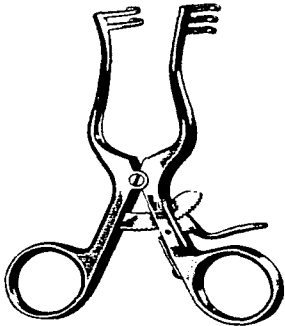
Figura 21.1 Instrumental quirúrgico típico utilizado para cortar, sostener y reparar tejidos animales.



Bisturios



hojas de bisturí



separador mecánico

Figura 21.1 cont.



retractor - S



**Agujas:** Estos son instrumentos filosos utilizados para la sutura. En su extremo como la aguja quirúrgica presenta un ojo o un sitio de unión a la sutura quirúrgica. Las agujas que presentan el material de sutura directamente unido a la aguja, se denomina atraumática y generalmente son desechables. Las que tienen un ojillo se denominan traumáticas. Las agujas quirúrgicas se clasifican de acuerdo a la forma que tienen y al tipo de punto que producen. Las agujas pueden ser romas, perforadas, filosas, de corte o se pueden presentar con algún otro tipo de punta.

**Bisturí y hojas de bisturí:** El bisturí se utiliza para realizar incisiones o cortar los tejidos. Cuando el bisturí tiene unida una hoja de corte se denomina escalpelo. Existen normalmente dos tipos de bisturí, los del número 3 que aceptan hojas de corte pequeñas y las del número 4 que aceptan hojas más grandes.

Las hojas de bisturí también se presentan en diferentes tamaños y apariencias, la número 10 es la más utilizada. Esta tiene una apariencia redondeada o convexa y se utiliza para hacer incisiones en la piel. La hoja número 11 tiene una terminación recta y puntiaguda. La número 15 tiene una superficie de corte mucho muy pequeña. Esta es utilizada para cirugía fina y delicada, por ejemplo alrededor del ojo. La hoja número 20 es similar a la hoja número 10 pero es más grande.

**Tijeras:** Estas son instrumentos disponibles en una gran variedad de estilos para cortar diferentes tipos de tejidos o materiales de sutura. Para evitar el deterioro de las tijeras, aquellas que han sido diseñadas para cortes de tejidos suaves no deben ser utilizadas para cortar sutura o cualquier otro tipo de tejido.

Las tijeras vienen en tres diferentes tipos o estilos. Estos pueden ser romo-romo, romo-afilado, o afilado-afilado. Pueden también ser rectas o curvas. Algunas tijeras presentan sierras para cortar vendajes o cartilago. Las tijeras romo-romo, significa que ambas puntas o terminaciones son chatas y son utilizadas para la disección de los tejidos vivos, ya que disminuyen las posibilidades de daño del mismo.

**Separadores:** Estos instrumentos ayudan a exponer el sitio quirúrgico a través de retraer los tejidos. Existen retractores automáticos y manuales.

#### Limpeza de los Instrumentos Quirúrgicos

Una vez que se ha realizado la cirugía, todas las agujas, hojas de bisturíes, así como otros materiales filosos desechables se deben de separar del resto del instrumental y colocarlos en un contenedor para objetos filosos y eliminarlos posteriormente. Esto ayuda a evitar lesiones a aquellas personas que manejan instrumental durante su empaquetamiento o limpieza.

El instrumental quirúrgico debe ser limpiado de microorganismos, sangre y pedazos de tejido que les quedó adherido, inmediatamente después de su uso. La presencia de estos dentritos en su superficie puede deteriorar el filo, así como dañar las características del instrumental. Si existen retrasos ineludibles para la limpieza del instrumental, todo el conjunto de instrumentos debe ser colocado en una bolsa de plástico para evitar que se sequen, dado que la solución salina o la sangre que cayó sobre el instrumental durante el procedimiento quirúrgico puede dañarlo. Al término de la operación todos los instrumentos deben de ser lavados, hayan sido utilizados o no. Los instrumentos con partes removibles deben ser desarmados para una mejor limpieza. Cada instrumento debe tener una atención especial durante el proceso de limpieza. Se recomiendan dos métodos de limpieza, uno manual y otro por medio de ultrasonido.

#### Limpieza Manual:

- 1.- Enjuagar los instrumentos en agua fría destilada desmineralizada, tan pronto como la cirugía haya terminado.
- 2.- Todos los instrumentos deben de ser abiertos y desensamblados.
- 3.- Inspeccionar cada instrumento, particularmente aquellos que tienen seguros o áreas particularmente no expuestas.
- 4.- Tallar cada instrumento con un cepillo suave bajo agua caliente y detergente para instrumental.
- 5.- Enjuagar los instrumentos con agua caliente y limpia, que asegure una completa remoción de los detergentes.

El enjuague con agua destilada o desmineralizada, se debe a que este tipo de agua virtualmente no contiene solventes o sólidos insolubles, los cuales pudieran permanecer sobre la superficie metálica del instrumental. Así mismo el agua destilada tiene un Ph que varía entre 6.7 a 7.2, lo cual neutraliza y remueve los restos de aguas alcalinas. De esta manera se queda la superficie del instrumental con un Ph neutro.

Limpieza por ultrasonido: Los limpiadores ultrasónicos convierten ondas de alta frecuencia en vibraciones mecánicas que empujan la suciedad fuera del instrumento. Un limpiador ultrasónico remueve aproximadamente el 90% de la suciedad y dentritos, pero no lo esteriliza o elimina la necesidad de remover áreas con sangre o sucias que son sumamente obvias y aparentes. Los limpiadores ultrasónicos deben ser manejados de acuerdo a las instrucciones descritas por el fabricante.

Lubricación: La lubricación del instrumental facilita el juego de las partes móviles y ayuda a extender su vida útil. Todo el instrumental debe de lubricarse después de haber sido limpiado (incluyendo aquel que fue limpiado por ultrasonido), esto debe ocurrir antes de que sea autoclaveado, utilizando lubricantes que sean antimicrobianos y solubles al agua.

## **Anestesia**

El uso de anestésicos y otras sustancias que alivien el dolor es esencial en los proyectos de investigación que utilizan animales. La prevención del dolor y su alivio es una responsabilidad de todos los que están involucrados en el proceso de investigación. Los detalles acerca de como la anestesia debe ser administrada y como actúa se describe en la sección dos de este manual. El asistente de técnico en animales de laboratorio deberá, sin embargo, conocer los tipos básicos de anestésicos y drogas relacionadas.

La anestesia es la pérdida de sensación. Aunque la anestesia puede ocasionar la pérdida de todos los sentidos, particularmente se refiere a la pérdida de dolor. La anestesia general se refiere al estado de inconsciencia producido por un agente anestésico. En este estado existe una ausencia total de la sensación de dolor en cualquier parte del cuerpo. Como la anestesia general es más frecuentemente utilizada durante la cirugía, se le conoce como anestesia quirúrgica. El término de anestesia local se refiere a la pérdida de sensación únicamente en una parte del cuerpo, mientras que el resto permanece sensible.

Las drogas que producen anestesia son denominadas anestésicos. Estos pueden ser administrados por una gran variedad de rutas, dependiendo de la naturaleza de la droga y del tipo de animal que va a ser anestesiado. Los anestésicos generales se administran generalmente por inhalación (Fig. 21.2) o inyección. Los agentes anestésicos inyectables pueden administrarse por vía intravenosa (IV), intramuscular (IM), o intraperitoneal (IP). Algunos anestésicos generales también pueden administrarse oralmente.

Los anestésicos locales generalmente se administran por inyección o aplicación tópica (directamente en la superficie a anestesiar). La inyección insensibiliza alrededor del área en que fue aplicada pero deja al animal completamente despierto. Un ejemplo de anestésico local, es la inyección que reciben las personas cuando van a ser tratadas por el dentista para una extracción. Los anestésicos tópicos pueden ser líquidos, en forma de aerosol, oleosos o cremas. Un ejemplo de este tipo de anestésico son las gotas anestésicas para los ojos.

### **CUIDADOS PRE-QUIRURGICOS Y POST-QUIRURGICOS**

Los animales deben de recibir generalmente ciertos cuidados especiales antes y después de la cirugía. La comprensión de los procedimientos pre-operatorios y post-operatorios de parte del técnico ayudarán a que este desempeñe mejor su trabajo y contribuya al éxito del equipo de investigación.

#### **Cuidados Pre-quirúrgicos**

Los procedimientos pre-operatorios dependen del tipo de cirugía y del tipo de animal. Generalmente se les retira el agua y la comida antes de la cirugía, para reducir las probabilidades de que el animal vomite mientras está inconciente. Cuando el animal no

tiene sus reflejos normales puede aspirar el contenido estomacal y producir serias complicaciones, las cuales pueden ocasionar incluso la muerte. En algunas ocasiones el utilizar enemas o laxantes puede ayudar a vaciar el contenido del intestino grueso. Es necesario realizar diferentes exámenes y pruebas que determinen el estado de salud del paciente antes de iniciar la cirugía, entre ellas está la toma de muestras de sangre y de orina.

#### **Cuidado Post-quirúrgicos**

El período post-operatorio se inicia cuando la cirugía ha terminado y cuando el animal es regresado a sus programas de cuidados normales. Durante éste período post-operatorio los animales deben ser observados cuidadosamente, usualmente se les debe proporcionar un ambiente templado y tranquilo. Si el animal está aún inconsciente, se le debe mover frecuentemente de un lado a otro para evitar la congestión de los órganos ventrales. Cuando el animal despierte de la anestesia, es muy probable que presente un período de movimientos involuntarios e incontrolados, es similar a lo que se observa en los períodos de recuperación de los humanos. Durante este tiempo el animal debe de ser cuidadosamente vigilado y deben de tomarse las medidas para evitar que el animal se dañe así mismo, o al técnico. Nunca se debe colocar alimento o agua en la jaula de recuperación. El técnico en animales de laboratorio debe prever que la conducta del animal no es la misma que solía tener cuando estaba consciente. Durante el período post-operatorio que pudiera poner en riesgo la vida o el bienestar del animal. El técnico en animales de laboratorio debe ser sensible para identificar los signos del dolor.

El personal médico veterinario es el responsable de determinar las acciones que se deberían tomar para corregir problemas post-operatorios. Es la responsabilidad del técnico en animales de laboratorio hacer que las instrucciones indicadas por el veterinario se lleven a cabo. Los veterinarios y los investigadores dependen del técnico en animales de laboratorio para recomendar medicamentos y tratamientos. Si el técnico en animales de laboratorio no comprende por que hay que administrar un tratamiento en particular, el debe de preguntar inmediatamente. Esto significa que hay una preocupación por el bienestar del animal.

El veterinario debe de preocuparse por el seguimiento del tratamiento. Si algo pareciera no estar marchando adecuadamente, se debe respetar al veterinario o supervisor, quién decidirá cuales son las medidas a tomar. El técnico en animales de laboratorio no debe de tomar estas decisiones. El seguimiento de las instrucciones del veterinario asegura que los animales obtengan los mejores cuidados posibles. Una vez que el problema ha sido solucionado, el técnico en animales de laboratorio debe preguntar al veterinario como se puede prevenir que este problema ocurra nuevamente.

#### **VALORACION DEL DOLOR Y DIESTRES**

El dolor es una percepción de malestar, diestrés o sufrimiento

corporal, resultado de la estimulación de terminaciones nerviosas especiales en los tejidos. Los impulsos de estas terminaciones nerviosas alcanzan las partes superiores del cerebro (la corteza) a través de vías nerviosas específicas. Los estímulos que dañan o lastiman, activan los receptores de dolor y tienen la capacidad potencial de dañar o destruir el tejido. Por lo tanto la sensación de dolor es un mecanismo protector, debido a que ocasiona que el animal se retire de ese estímulo que le produce daño. Cuando se utiliza anestesia local las vías nerviosas se bloquean, por lo tanto el dolor no se percibe, incluso cuando el cerebro está funcionando. La anestesia general, por otro lado, ocasiona parálisis de los centros altos del cerebro. Por lo que incluso cuando las vías nerviosas están abiertas y fraccionadas, el animal no siente dolor, debido a que las áreas de percepción dolorosas en la corteza no están funcionando.

A diferencia de otros tejidos, el cerebro por si solo carece de terminaciones nerviosas receptoras del dolor.

El diestrés es el sufrimiento físico o mental. El diestrés puede ser ocasionado por dolor, temor o ansiedad. Al igual que el dolor, el diestrés puede ocasionar cambios fisiológicos en el animal, los cuales en algunas ocasiones son difíciles de observar.

Muchas de las condiciones dolorosas son obvias. Un animal que cojea o tiene una fuerte lesión seguramente está sintiendo dolor. Sin embargo, muchas de las condiciones dolorosas no son tan obvias. Un técnico en animales de laboratorio puede determinar si un animal está sintiendo dolor o diestrés a través de observar su conducta. Un cambio en la conducta no atribuible a una causa conocida es el principal criterio para determinar dolor o diestrés. A través de la observación diaria, un cuidador de animales se convierte en un individuo calificado para hacer valoraciones de conducta. Por ejemplo, un cambio en la postura del animal, cambio en sus hábitos de comida o cambios en la respuesta al manejo, son aspectos que deben ser observados. Los cambios en la conducta que pueden ser indicadores de la presencia de dolor o diestrés son:

- 1.- Vocalización, como lamentos, aullidos o chasquidos.
- 2.- Los cambios en la frecuencia y profundidad de la respiración.
- 3.- Cambios en la expresión facial.
- 4.- Movimientos inusuales como cojear, temblor o fruncir el seño.
- 5.- Cambios posturales como encorvarse o encogerse.
- 6.- Cambios en la apariencia de la cubierta del pelo, de los párpados, de la boca o de otras partes del cuerpo.
- 7.- Decremento significativo en la actividad o en la viveza.
- 8.- Pérdida de apetito.

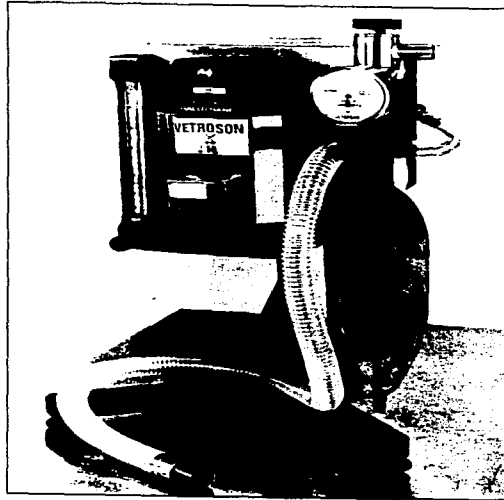
La identificación y la descripción del dolor y el diestrés es una de las responsabilidades más importantes que debe de considerar el técnico en animales de laboratorio.

### CUIDADOS DE EMERGENCIA.

Una emergencia es algo que surge de inesperado, es el resultado de la combinación de eventos que requieren inmediata atención. Algunas veces el técnico en animales de laboratorio debe de responder a una emergencia sin la asistencia de un médico veterinario o un supervisor. La acción rápida y decidida de un técnico, en ocasiones evita el sufrimiento de un animal y previene la pérdida de los datos experimentales. Los cuidados efectivos de emergencia requieren sentido común y conocimiento de la ciencia de los animales de laboratorio. Las emergencias médicas pueden ocurrir durante la recuperación. El técnico en animales de laboratorio debe por lo tanto estar familiarizado con algunos de los problemas de cirugía que se pueden presentar. Después de la cirugía el animal puede morder los sitios de sutura y la piel unida por los puntos de sutura puede separarse. Una incisión quirúrgica abierta puede ser una amenaza para la vida, dependiendo del tipo de cirugía que se ha desarrollado. Una emergencia anestésica puede involucrar que el animal haya sido sobreadiestado y por lo tanto provocar que sus signos vitales como el latido cardíaco, la presión sanguínea o la temperatura, estén seriamente fuera de lo normal. Como resultado de un procedimiento quirúrgico, un animal puede perder demasiada sangre y puede requerir una transfusión. El choque es una situación que amenaza la vida del animal siendo resultado del mal funcionamiento del sistema circulatorio o de la pérdida de sangre. En casos de choque, una gran parte de la sangre del cuerpo sobre todo de las áreas periféricas es canalizada hacia las vísceras u órganos. Esta es la razón por la cual los animales en estado de choque tienen las encías pálidas, se sienten fríos y muestran un patrón de respiración muy superficial. Estos animales tienen la apariencia de estar débiles y ansiosos pudiendo estar inconscientes. Las situaciones de emergencia médica involucran casos en que los animales están seriamente enfermos, partos o peleas. En el caso de una crisis médica ambiental, el técnico en animales de laboratorio tiene como primera responsabilidad llevar a efecto los procedimientos establecidos para este tipo de emergencias.

Si un animal permanece en una esquina, o parece tener limitada su movilidad, es posible que el animal tenga atrapada una pata en esa parte de la caja. El técnico en animales de laboratorio debe de reconocer o corregir este problema inmediatamente, teniendo cuidado de que el animal no muerda o rasguñe cuando se le maneja, debido al dolor o temor que siente.

Si la caja se ha inundado, debido posiblemente a una falla en el sistema de abastecimiento de agua, los animales deben de ser retirados inmediatamente. Para complicaciones más serias el técnico en animales de laboratorio debe buscar ayuda lo más pronto posible. El técnico debe de reportar cualquier emergencia, resuelta o no a sus superiores, ya sea al veterinario o a la persona a cargo del bioterio.



**Figura 21.2** El aparato de anestesia inhalada es utilizado comúnmente para procedimientos quirúrgicos largos. La verificación de la concentración de gases y el escape de desechos puede ser responsabilidad del técnico en animales de laboratorio.

## CAPITULO VEINTIDOS

### EUTANASIA

La eutanasia es "el acto intencional de producir la muerte sin dolor". La Asociación Americana de Medicina Veterinaria (AVMA), en 1986 presento "el reporte del panel sobre eutanasia de AVMA", el cual presenta su consenso sobre los criterios para reducir el dolor. El reporte es una medida recomendada para cualquier técnico en animales de laboratorio que quiere desarrollar una mayor comprensión sobre este tema. ¿Por que es necesario producir la eutanasia en animales que han sido utilizados en la investigación? ¿Por que no se les debe permitir continuar su vida normalmente?. Existen dos razones principales. La primera, es que muchos experimentos requieren examinar los tejidos después de que el animal ha muerto. Estos estudios usualmente son la única forma para obtener las respuestas que el investigador busca. La segunda razón es un criterio de tipo económico. Cuando el animal es criado y desarrollado para utilizarse en la investigación, no es útil para otra cosa. Más aún no es apropiado desde el punto de vista humanitario someter al animal a un nuevo proceso de investigación cuando este ya ha sido utilizado en uno previo. A los seres humanos nos incómoda la idea de la muerte. Tenemos la tendencia a transferir esta molestia de la muerte a los animales como si fueran personas. Desafortunadamente, algunos de los métodos humanitarios utilizados para producir eutanasia producen movimientos involuntarios del cuerpo o vocalizaciones que personas no familiarizadas con el procedimiento pudieran asociar con dolor o molestia, esto puede suceder incluso con personas que están involucradas con el proceso de investigación. Para poder manejar adecuadamente las técnicas de eutanasia, el técnico en animales de laboratorio debe conocer la esencia que existe detrás de éste procedimiento.

#### PERCEPCION DEL DOLOR

Un estímulo solamente se puede convertir en doloroso cuando el mensaje ha sido recibido en el cerebro. Los animales pueden hacer movimientos sin que sientan dolor. En el caso de la anestesia general, la corteza cerebral de los animales no funciona y por lo tanto no pueden percibir dolor. Aún estos animales pueden producir movimientos involuntarios. Estas respuestas indican la profundidad de la anestesia. Cuando el dedo de la pata de un animal ligeramente anestesiado es pinchado, la pierna se mueve. Esta respuesta es un reflejo autónomo. El animal es incapaz de sentir dolor debido a que su centro nervioso esta libre de sensaciones de dolor, la corteza del cerebro no está funcionando. Por el contrario, es posible que un animal pueda sentir dolor sin ser capaz de tener movimiento. Esto sucede con algunas drogas de las llamadas curariformes, las cuales se utilizan para paralizar los músculos. Estas drogas son



derivadas del curare, una droga que utilizan algunas tribus de Sudamérica en la punta de sus flechas. Si bien estas drogas paralizan los músculos, no tienen efecto sobre el cerebro. Por lo tanto el animal es incapaz de moverse pero su cerebro continúa funcionando. Los animales sienten dolor pero no pueden reaccionar a este. Por esta razón las drogas curariformes solo pueden utilizarse bajo anestesia general, tanto para cirugía como para eutanasia.

#### **MÉTODOS DE EUTANASIA**

La eutanasia puede producirse tanto por agentes químicos como por agentes físicos. Los agentes físicos pueden ser inhalados o inyectados. Varios de los anestésicos pueden ser utilizados como agentes eutanásicos, sobre todo cuando son administrados en sobredosis, lo cual resulta en una muerte rápida y sin dolor. Los métodos físicos no involucran el uso de drogas o agentes químicos, pero requieren de algunos dispositivos mecánicos. Aquí solo se presentarán los métodos enlistados y aceptados por el panel de AVMA.

Es importante seleccionar el método de eutanasia, la capacidad y habilidad del técnico en animales de laboratorio. Los animales que van a ser sacrificados por el método de eutanasia deben de ser manejados de tal forma que se evite temor y aprensión. Preferentemente, el método eutanásico no debe ser realizado en presencia de otros animales. El procedimiento no estará completo hasta que el animal este muerto y esto haya sido completamente confirmado. Para confirmar si el latido del corazón ha cesado se debe de abrir el tórax.

#### **Agentes Químicos Inhalados**

El metoxifluorane, el isofluorane y halotane son gases de uso inhalado para procedimientos quirúrgicos, no explosivos y no inflamables. Estos agentes producen una anestesia rápida y altamente efectiva para la eutanasia en animales pequeños como gatos y perros jóvenes. Los ratones pueden ser sacrificados por eutanasia en una cámara cerrada transparente de plástico o vidrio. En esta cámara se coloca un algodón embebido con el líquido anestésico en el fondo de la cámara bajo una rejilla que evite el contacto directo del algodón con el animal. Después de que el líquido se ha vaporizado en la cámara, los animales se colocan dentro y se cierra la cámara con una tapa de seguridad (Fig. 22.1). El procedimiento se debe de realizar en una campana de seguridad, para que los vapores emanados no puedan producir algún daño al personal.

El dióxido de carbono es un agente que tiene propiedades anestésicas y produce depresión rápidamente. Como método eutanásico es razonablemente seguro, efectivo y de bajo costo especialmente cuando se utiliza con roedores. Su uso no requiere de una campana de gases si el cuarto donde se utiliza está bien ventilado. El gas generalmente se comercializa en tanques de gas comprimido mezclado

con oxígeno. El dióxido de carbono no tiene color, ni olor y es más pesado que el aire, por lo tanto el gas es fácilmente vaciado del cilindro hacia la cámara con tapa o una bolsa (Fig. 22.2). Los animales a sacrificarse se colocan dentro de la cámara provocándose una muerte rápida y sin dolor.

#### **Agentes Químicos Inyectables**

Son cuatro agentes químicos inyectables los enunciados en el reporte de AVMA y se refieren como agentes intravenosos aceptables. Esto significa que son los métodos preferidos o recomendados para administración intravenosa. Algunos de estos agentes pueden ser utilizados por otras vías, sin embargo esta decisión debe ser dejada a los individuos que tienen la mayor experiencia al respecto generalmente los médicos veterinarios.

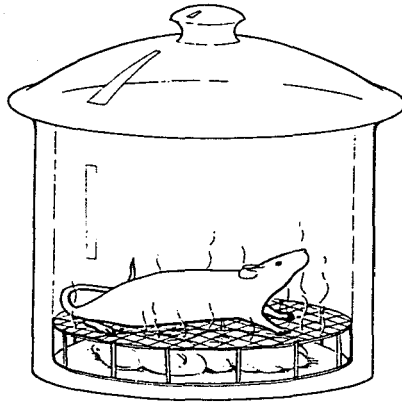
Los barbitúricos son altamente efectivos para producir anestesia y muerte. Su utilización es muy segura, además de que son generalmente baratos. Una de las desventajas de su uso, es que pueden ser potencialmente usados por el personal para otros propósitos. Algunas personas pueden hacerse adictas a estas sustancias y por lo tanto adquirirlas ilegalmente o suministrárselas a otras personas con estas mismas intenciones. En consecuencia los barbitúricos son cuidadosamente controlados por el gobierno a través de la administración para el control de drogas. Se debe llevar un cuidadoso registro e inventario de estas sustancias para prevenir su mal uso.

El T-61 es una mezcla no narcótica, no barbitúrica, la cual es efectiva y segura así como también económica. Esta debe ser administrada de manera intravenosa por personal altamente entrenado siguiéndose las indicaciones para una apropiada dosificación e inyección. Su uso en algunos Estados de los Estados Unidos esta restringido.

#### **Métodos Físicos**

La dislocación cervical es un método seguro y de poco costo para producir eutanasia, comúnmente se utiliza en pequeños roedores. Es especialmente útil cuando los tejidos animales deben estar libres de la presencia de drogas. Este método requiere de habilidad y entrenamiento. El reporte de AVMA recomienda que la dislocación cervical debe ser utilizada únicamente para pollos, ratones o ratas pesando menos de 200 gr., y conejos pesando menos de 1 Kg. Cuando este procedimiento se utiliza dentro de un protocolo experimental, el animal debe ser previamente sedado o anestesiado ligeramente.

La decapitación es otro método físico que se puede utilizar con fines de eutanasia. Este método no se puede realizar en animales conscientes a menos que se cuente con la aprobación del Comité Institucional para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (CICUAL) y que se justifique a este comité que se tiene que utilizar este procedimiento bajo estas condiciones, ya que de otra manera se invalidarán los resultados de la investigación.



**Figura 22.1** Recipientes o cámaras de vidrio o plástico transparente se usan para anestésiar o aplicar la eutanasia a pequeños animales de laboratorio tales como roedores. Los animales no deben estar en contacto directo con la fuente del anestésico o el agente eutanásico. Los animales solamente deben estar expuestos a los vapores.

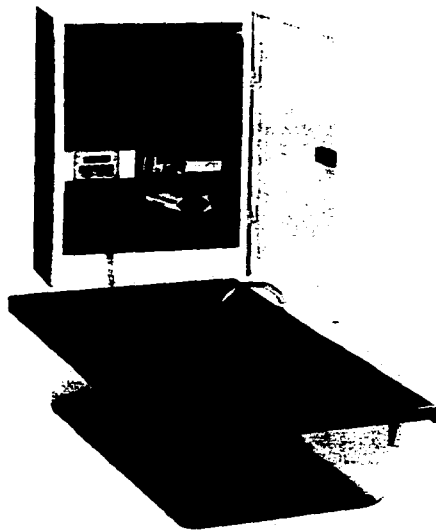


Figura 22.2 El dióxido de carbono es un gas seguro que puede ser utilizado como método de eutanasia. Se puede usar como fuentes, el gas comprimido en cilindros o los vapores producidos por el hielo seco.

## CAPITULO VEINTITRES

### DISEÑO EXPERIMENTAL Y METODOLOGIA

El diseño experimental afecta profundamente los resultados de la investigación y es por lo tanto extremadamente importante. El primer paso en el diseño de un experimento, es identificar claramente el problema que se pretende estudiar. Los objetivos de esta investigación deben de ser realistas; en otras palabras deben de ser alcanzables. El siguiente paso es escoger el diseño experimental que se adapta más a este tipo de experimentos. El modelo puede ser *in vitro*, animal, o incluso de células bacterianas, utilizando un tipo de animal en particular o una planta.

#### EL PROYECTO DE INVESTIGACION

Una vez que se ha definido el problema y se ha seleccionado el modelo apropiado para el estudio, el investigador desarrolla un plan para realizar su investigación. Este plan experimental usualmente incluye las siguientes partes:

- 1.- Una revisión de los conocimientos que existen publicados en la literatura científica. Esto requiere el estudio de libros y revistas científicas, para encontrar todo lo que este relacionado y que se sepa alrededor del problema. Es importante estar seguros deque nadie más ha realizado este tipo de experimentos. La duplicación del experimento puede ser un desperdicio, no únicamente en tiempo y dinero, si no también en vidas animales.
- 2.- El modelo que se va a utilizar. Debe especificarse claramente si son animales los que van a ser utilizados, el número, la especie, la cepa y la justificación para su uso.
- 3.- La hipótesis. Esta es una clara teoría que explica el problema y es la base para la investigación.
- 4.- Un programa paso por paso de todos los problemas experimentales.
- 5.- Una descripción de los métodos que se utilizarán para la recolección de datos y su valoración.
- 6.- Una descripción de las reacciones adversas o riesgos para el personal que se pudieran esperar de las manipulaciones.
- 7.- Una descripción de los procedimientos estándares de operación (SOP), incluyendo los métodos de alojamiento y cuidados para los animales.
- 8.- Un presupuesto que muestra por anticipado el costo del experimento, incluyendo la compra de los animales y su costo diario, así como los salarios de los investigadores.
- 9.- Una descripción de la experiencia y calificaciones de los investigadores.

Si se van a utilizar animales el protocolo completo debe ser enviado a el IACUC para su revisión. Una vez que el protocolo es aprobado y se han obtenido los fondos por la institución o de un patrocinador externo, el investigador puede iniciar el estudio.

#### CONTROLES Y VARIABLES EXPERIMENTALES

En la mayor parte de los experimentos existen uno o más grupos control y uno o más grupos de pruebas experimentales. El grupo control son los modelos del experimento que no son sujetos a tratamiento. Esto proporciona un estándar en contra de los resultados que provengan del grupo experimental, de tal manera que estos puedan ser comparados (Fig. 23.1). Por ejemplo, si a un grupo experimental se le realiza esplenectomía, al grupo control no se le hace. Si el investigador también quiere conocer cual es el efecto de la incisión quirúrgica y de la anestesia en el experimento, entonces los animales deben de dividirse en los siguientes grupos:

Grupo 1: Animales a los cuales se les realiza esplenectomía y se convierten en el grupo experimental.

Grupo 2: Animales que reciben operación "Sham", en las cuales se les suministra el anestésico y se les realiza la incisión quirúrgica pero no se les retira el bazo.

Grupo 3: Animales que reciben únicamente anestésico.

Grupo 4: Animales que no reciben ningún tratamiento.

Una parte importante del diseño control/experimental, es la asignación aleatoria de los animales a los grupos control o experimental. La palabra aleatorio en este sentido significa, que los animales deben de tener igual oportunidad de ser seleccionados para cualquier grupo del estudio. Cualquier factor o condición que pudiera cambiar se debe referir como una variable. Las variables experimentales como las manipulaciones específicas de la investigación, la cepa de los animales, la edad, el carácter y las condiciones ambientales, deben de estar planeadas. Es extremadamente importante evitar la introducción de variables indeseables. El protocolo y los SOP del bioterio deben estar diseñados para evitar la presencia de variables indeseables tanto como sea posible.

El técnico en animales de laboratorio desempeña un papel importante en mantener bajo su control las variables indeseables en el experimento, a través de apegarse cuidadosamente a los procedimientos de rutina.

Para reducir la presencia de variables incontrolables en los experimentos, se utilizan poblaciones altamente homogéneas. Esto significa que todos los animales seleccionados sean tan idénticos como sea posible tanto en raza, sexo, edad y peso. Los factores ambientales como el alimento, el tipo de caja, la temperatura del cuarto, la humedad y la contaminación microbiana, deben también ser los mismos para todos los animales utilizados. Cualquiera de estos

factores pueden tener influencia en los resultados del experimento.

El técnico en animales de laboratorio debe de evitar el intencionalmente influenciar las variables experimentales. Errores técnicos como los siguientes pueden afectar los resultados de la investigación:

- 1.- Mezclar o intercambiar cepas de animales.
- 2.- Identificación inapropiada de los animales.
- 3.- Errores en el pesado o medición de los animales.
- 4.- Registro incorrecto de los datos.
- 5.- Variaciones en la temperatura del cuarto, iluminación, alimento, material de cama o tipo de caja.
- 6.- Incrementar el nivel de ruido por descuido en el manejo de las cajas o equipo.
- 7.- Cambiar o suplementar la dieta estándar o de rutina.
- 8.- Mostrar favoritismo hacia algún animal en particular.

Cuando los cambios experimentales ocurren, el técnico en animales de laboratorio, usualmente es el primero en identificarlos. El debe de registrar estos cambios y reportarlos a su supervisor. Los investigadores confían en el técnico en animales de laboratorio para mantener la integridad del experimento.

#### **MODELOS ANIMALES**

Los animales son similares en muchas formas a los seres humanos. Los músculos de un perro o de una rata, por ejemplo, tienen actividad fisiológica similar a la de los músculos de los seres humanos. Por lo tanto al estudiar la función de los músculos en el perro o ratón, nosotros podemos obtener información que también sea aplicable a los humanos. Los animales utilizados para investigación científica se les denomina modelos animales.

Los modelos animales son una forma importante para estudiar enfermedades así como funciones normales, la información que se obtiene para estos estudios es benéfica tanto para seres humanos como para animales. Los modelos animales deben de simular muy bien la situación que se quiere estudiar en los seres humanos. Los seres humanos de hecho son utilizados como sujetos de experimentación en aproximadamente el 30% de todas las investigaciones biomédicas, pero frecuentemente no son los mejores objetos para investigación en algunos estudios en particular.

Los modelos animales se pueden clasificar en naturales o inducidos. Los modelos naturales son aquellos en los cuales una enfermedad o entidad se presenta espontáneamente; por ejemplo la aterosclerosis en el Pichón Blanco de Carneau. La aterosclerosis es una enfermedad prevalente en los seres humanos, en la cual se presentan depósitos de grasa a lo largo de las paredes internas de las arterias. Cuando se estudia la enfermedad en condiciones naturales en estos pichones, es posible aprender algunos hechos sobre la enfermedad que son válidos también para los seres humanos. Otros ejemplos de modelos animales naturales son, la Epilepsia en

el Jerbo de Mongolia y la enfermedad cardíaca del Hámster Sirio (cardiomiopatía).

Los modelos animales inducidos, son aquellos en los que una enfermedad o condición se produce artificialmente. Las células tumorales por ejemplo, se pueden inyectar a los animales para estudiar el cáncer. A los animales también se les puede tratar con sustancias químicas que pueden desarrollar cáncer. Este tipo de estudios ha mostrado que algunas sustancias químicas como las que se encuentran en el humo del cigarro producen cáncer.

Los científicos invierten una gran cantidad de tiempo en desarrollar y seleccionar el modelo animal apropiado. La elección del modelo para la investigación depende de aspectos prácticos como son: costos, disponibilidad de animales, instalaciones, capacitación de los técnicos y otros factores. Pero quizás el factor más importante sea el que el modelo animal debe poseer las características biológicas que le permitan al científico contestar las preguntas de su investigación.

#### **METODOLOGIA DE LA INVESTIGACION**

Existen muchas preguntas que requieren contestación acerca de la salud humana y de los animales, las cuales pueden ser contestadas utilizando diferentes técnicas de investigación en animales. Este capítulo proporciona una vista general de las principales técnicas de investigación en animales.

#### **Estudios Dietéticos y de Drogas Nuevas**

Los estudios dietéticos se realizan para contestar preguntas que la gente se hace así misma y también con referencia a los animales, como es el caso de ¿Cuál es el mejor alimento disponible? ¿Que es lo mejor para alimentar a un animal?. Desde el inicio del siglo XX los científicos han intentado contestar este tipo de preguntas utilizando animales en estudios dietéticos. Es importantes utilizar animales en estudios dietéticos, debido a que únicamente en sistemas vivos, se pueden presentar las complejas interacciones que ocurren sobre los nutrientes y fluidos digestivos. Existen algunos casos por ejemplo, en los cuales las necesidades por algún nutriente disminuyen cuando se incrementa la concentración de otros nutrientes. Existen también casos en los cuales los efectos dañinos de un veneno como el mercurio se reducen al agregarles a la dieta ciertos nutrientes como el Se. Aún no se han desarrollado métodos químicos que den a los científicos la misma información que se obtiene por pruebas en sistemas vivos denominados bioensayos.

Un bioensayo en el caso del estudio de drogas nuevas sirve para determinar la actividad de una sustancia en un animal vivo. Si se le administran sustancias idénticas a una pareja de animales con la excepción de un ingrediente diferente y conocido, se puede atribuir que cualquier diferencia que se observe es debida a ese ingrediente. De esta forma una hormona sintética puede compararse con una hormona que se presenta de manera natural, para ver si



ambas tienen el mismo efecto en los animales experimentados. El bioensayo puede también ser utilizado para probar sustancias para las cuales no existen pruebas invitro.

### **Implantes y Canulaciones**

Un dispositivo colocado en un tejido vivo se denomina implante. Existen muchos tipos de implantes que se utilizan en seres humanos y animales; algunos son temporales y otros son permanentes. Los lentes de contacto por ejemplo, se consideran como implante a pesar de que son fácilmente removibles. Los tipos de implantes más permanentes son: marcapaso cardíaco, clavos, placas para huesos y reemplazos de articulaciones. Todos los dispositivos primero fueron probados en animales, pero ahora se les utiliza comúnmente para los seres humanos. La necesidad de mejorarlos continúa produciendo una importante demanda para uso de animales en la investigación.

Otros tipos de investigación también utilizan materiales y dispositivos implantados en animales. Por ejemplo, es posible colocar electrodos en el corazón, cerebro y otros tejidos para medir su actividad eléctrica. Una gran variedad de ventanas y portales de acceso pueden implementarse para realizar muestreos de materiales del cuerpo o inyecciones de sustancias por probar. Los pequeños dispositivos similares a cápsulas denominados bombas osmóticas pueden colocarse bajo la piel de un animal. Este proporciona un flujo continuo y regulado de medicación o sustancias a prueba. Todos estos implantes dan a los investigadores acceso continuo y repetido a varias partes del cuerpo sin realizar acciones invasivas repetitivas.

Uno de los métodos más comunes de implantes es la canulación, la cual consiste en introducir un tubo pequeño dentro de una cavidad corporal, ducto o vaso. Una aguja hipodérmica por ejemplo se puede utilizar para canular una vena. La vena canulada puede conectarse externamente con un equipo para administración de fluidos o una jeringa para la colección de muestras de sangre.

Los tubos de plástico o goma flexible denominados catéteres pueden también utilizarse para canular una cavidad corporal, vaso o ducto. Un catéter se puede introducir a través de una apertura natural del cuerpo como puede ser la uretra. De esta manera se proporciona acceso externo a la vejiga urinaria. Un catéter intravenoso requiere de una apertura o incisión artificial. El acceso a la vena se puede realizar primero con una aguja hipodérmica. El catéter flexible se introduce junto con la aguja en la vena. La aguja puede permanecer en el sitio o se puede remover dependiendo del diseño del catéter. Una amplia cantidad de catéteres están disponibles para las cateterizaciones de vasos sanguíneos en animales de laboratorio tan pequeños como ratones o tan grandes como caballos.

Existen algunos peligros inherentes al uso de implantes o catéteres. Un catéter intravenoso proporciona acceso directo del exterior hacia la totalidad del cuerpo del animal a través del sistema circulatorio, por lo que se convierte en amenaza para la

vida del animal la introducción de materiales extraños así como bacterias indeseables que estuvieran dentro o alrededor del catéter. Para evitar una infección es esencial que los procedimientos para la inserción y mantenimientos de los implantes se realicen de manera aséptica.

De manera ideal la piel de los animales debe de cubrir completamente al implante. La protusión de los electrodos o tubos de un animal evita que la apertura o insición sane completamente. Sin embargo, se espera que se forme una adhesión razonablemente firme de la piel hacia el implante. El técnico en animales de laboratorio debe estar atento para cualquier signo de problemas con el implante y para que reporte este a su supervisor. Los indicios más comunes de problemas son, la presencia de descargas excívas alderredor del implante, intentos del animal por deshacerse del implante y dobleces del tubo. Si el técnico en animales de laboratorio carece de instrucciones específicas, no debe de intentar poner remedio a éstos problemas, pero si debe reportarlo a su supervisor.

#### **Estudios de Biología Básica**

Los científicos en estos momentos tienen conocimientos limitados de algunas partes del cuerpo humano y de los animales. Se ha estimado que menos del 25% de los componentes químicos del cuerpo han sido aislados e identificados. Se requieren mucho más estudios si queremos comprender que es lo que contienen o mantienen las criaturas vivas. Las preguntas relacionadas con las funciones normales y anormales de los principales sistemas y órganos se discutieron en las primeras páginas de este manual, pero aún existen muchas preguntas. ¿Como es que el sistema inmune puede luchar contra el cáncer? ¿Como es que nosotros podemos evitar los defectos al nacimiento del corazón o la médula espinal? ¿Por que algunas personas o animales desarrollan hemorragias? ¿Por que la mayor parte de algunos nutrientes en particular pueden ser suministrados únicamente a algunas especies? ¿Por que el parto ocurre generalmente al final de la gestación y no prematuramente? ¿Por que algunas personas engrandecen sus músculos y se amplian después de comer y otras no? ¿Que hace que los animales se hagan viejos y mueran? ¿Por que algunas cepas de ratones son más resistentes a las enfermedades que otras? ¿Que podemos hacer para que la gente aprenda más fácilmente? ¿Como es que funciona el cerebro? ¿Cuales son los factores fisiológicos involucrados en los desordenes mentales y como pueden ser estos tratados?

La lista de preguntas y respuestas potenciales no tiene fin. Los científicos frecuentemente utilizan animales para explorar posibles respuestas.

Para muchos estudios, los animales son utilizados únicamente como fuentes de obtención de tejidos normales para realizar estudios *in vitro*, esto después de que se les ha aplicado la eutanasia. En otros estudios algunas sustancias químicas

específicas, tipos celulares u órganos, pueden ser alterados para determinar el subsecuente cambio biológico. Otras veces se puede evaluar una cantidad de respuestas con una serie de datos registrados u obtenidos del suero, células, tejidos o compuestos marcados con isótopos, que se administraron por un periodo de tiempo específico, las variaciones para todos estos tipos de estudio son demasiado complejas para que una sola persona pueda comprenderlas completamente. Cuando se trabaja con un modelo animal nuevo, el técnico en animales de laboratorio debe de familiarizarse con el animal, de tal manera que pueda mejorar el desempeño de su trabajo.

#### **Aseguramiento de la Calidad**

Los animales de laboratorio, frecuentemente son utilizados en la constatación de la calidad o seguridad de productos. Miles de nuevas drogas, aditivos para alimentos, pesticidas, químicos industriales y otros productos se venden cada año. Es importante que para la seguridad de cualquier persona nosotros determinemos como estos productos pueden afectar a los usuarios, al medio ambiente y a las futuras generaciones de animales, plantas y humanos sobre la tierra. Muchas de estas pruebas utilizan animales y son diseñadas para evaluar los efectos de estos nuevos productos. Algunas de estas pruebas son relativamente atraumáticas, mientras que otras pueden producir dolor o incluso la muerte de los animales. Una importante meta de estas pruebas es, el obtener la mayor cantidad de datos de aseguramiento de la calidad o de seguridad para el menor número de animales posibles. Estos datos deben de estar disponibles siempre para proporcionar información para centros de atención de envenenados, médicos, ecologistas y otros científicos. Las pruebas generalmente involucran la exposición de animales a los nuevos materiales. Es importante determinar si los materiales son tóxicos y también a que niveles lo son, con el propósito de proporcionar información preventiva a los futuros usuarios que establecerán la producción, uso y los procedimientos de transportación. El diseño del experimento depende del tipo de materiales que serán evaluados, como estará este en contacto con los humanos, animales o el medio ambiente y cuales son los aspectos específicos de seguridad que se valorarán. Así mismo para evaluar la seguridad de un producto nuevo, los animales de laboratorio tienen un papel importante en las pruebas que se realizan rutinariamente para drogas ya existentes. Este papel es quizás el más importante en el área de producción de vacunas, donde cada lote debe ser probado para determinar que el producto es seguro y efectivo para su uso en humanos.

#### **Experimentos de Conducta y Motivación**

La conducta es la respuesta de un individuo, grupo o especie a su ambiente. Cualquier respuesta a estímulos se considera conducta. Los científicos que se dedican a estudios de la conducta en humanos

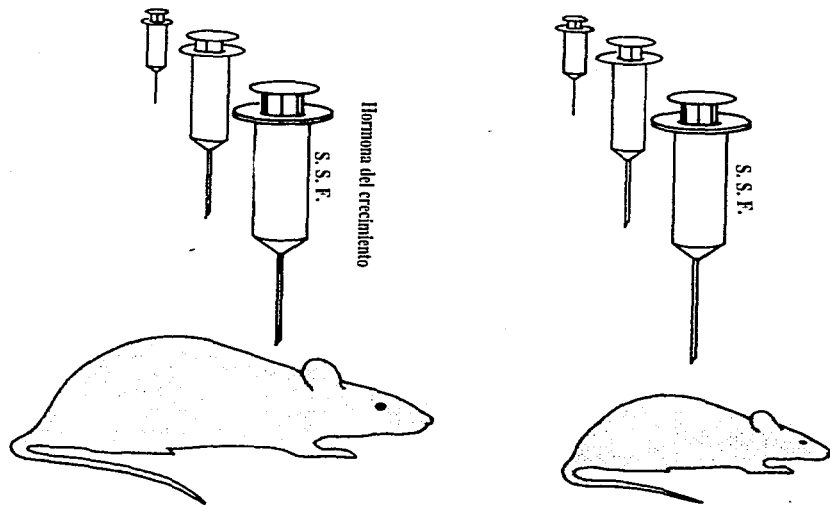
y animales buscan descripciones, generalizaciones y explicaciones de esta conducta. La psicología es la ciencia de la mente y de la conducta, que trata exclusivamente con seres humanos. La etología es la ciencia que estudia la conducta de los animales.

Las investigaciones psicológicas incluyen un amplio rango de aproximaciones experimentales. La fisiología aplicada a la psicología se concentra sobre las estructuras y funciones del cuerpo responsables de la conducta. Esto incluye por ejemplo el funcionamiento del sistema nervioso, de la aproximación al estudio de los mecanismos de la sensación, percepción y aprendizaje. El desarrollo de la conducta en las personas y animales, es también un área importante en la investigación. Muchos de los investigadores que se dedican a la conducta, utilizan técnicas que involucran tanto a humanos como animales como sujetos de experimentación. Los animales son utilizados como sujetos de experimentación cuando el uso de técnicas es inaceptable para los humanos.

Los estudios de conducta con animales puede ayudar a solucionar problemas de los seres humanos. Algunos mecanismos de conducta tanto normal como anormal, son comunes a seres humanos y animales. Nosotros podemos utilizar animales para estudiar la relación entre el estrés psicológico y la respuesta inmune a la infección. Sería difícil controlar como sujetos de experimentación a los humanos, incluso si estos fueran voluntarios para este tipo de estudios. Se ha mostrado que el estrés reduce la efectividad de la respuesta inmune en un gran número de especies animales incluyendo los monos. Por lo tanto existen razones para creer que los mismos cambios pueden ocurrir en los humanos. Existen también algunas razones menos obvias para estudiar la conducta de los animales. El estrés de un alojamiento y manejo inapropiado pueden afectar los resultados de un experimento en el cual el estrés no ha sido considerado como factor importante.

Los investigadores que realizan estudios de la conducta de los animales, realizan estos estudios tal y como se estudian otros fenómenos naturales. La biología de la vida silvestre se ha popularizado con los programas de televisión especiales, que muestran la conducta de los animales estudiándolos en su habitat natural. Los estudios de laboratorio proporcionan información que complementa los campos de la investigación. La investigación de la conducta es también importante debido al intenso debate del apropiado uso de los animales en la investigación. Mientras que las personas que se preocupan por los derechos de los animales se evocan a levantar causas éticas y morales, ellos también realizan preguntas sobre la conducta animal que requieren que sean legitimadas. Por ejemplo, ellos claman preguntas como, ¿Podemos emitir juicios del bienestar animal a partir de su conducta, así como también de sus alrededores? Esto permite realizar otro tipo de preguntas como, ¿Existirán diferencias significativas entre especies y por lo tanto también existirán diferencias en su bienestar? y ¿Como es la conducta de los animales criados

domesticamente, diferente de los animales que se han criado en vida silvestre?. Todas estas preguntas proporcionan motivación para realizar estudios más a fondo de la conducta animal.



**Figura 23.1** Los animales de los grupos control en un experimento ideal, reciben el mismo tratamiento que los animales del grupo experimental, excepto por la sustancia o componente que se está probando. La comparación de la diferencia entre los resultados ayuda a explicar el papel de la variable experimental.

263  
**SECCION II**

**UNIDAD 1**

**ADMINISTRACION Y DIRECCION**

Para poder realizar una eficiente supervisión es necesario saber dirigir.

Autores como J.A. Reinecke y W.F. Schoell., en su libro Introducción a los Negocios: Consideraciones Contemporáneas, definen dirección como el proceso de lograr las metas, a través de unir y coordinar los recursos humanos, financieros y físicos de la empresa. Como supervisor es indispensable entender las funciones de la dirección para poder seleccionar y motivar a la gente a alcanzar la mayor productividad posible. Así mismo se deberán tener conocimientos sobre análisis de costos con el fin de identificar y controlar los factores que inciden en los costos, para lo cual su Departamento deberá proporcionar las metas a alcanzar con una eficiente relación costo-beneficio. También como supervisor, se debe ser capaz de manejar los recursos físicos con destreza y conocer las metas que la institución tiene en el momento, cumpliendo con las regulaciones gubernamentales, federales, estatales, locales e institucionales.

**CAPITULO UNO**

**FUNCIONES DE LA DIRECCION DEL BIOTERIO**

Muchas organizaciones tienen tres niveles de dirección; bajo, medio y alto.

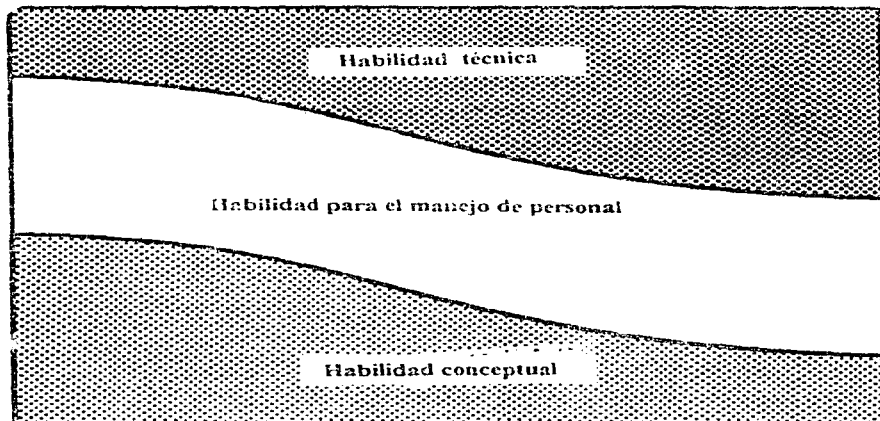
El nivel de dirección bajo incluye supervisores y jefes que supervisan a los trabajadores. Estos tienen nombramientos como: Supervisor, supervisor de piso, jefe de área, tecnólogo ó jefe de técnicos.

El director de nivel medio vigila las actividades de los supervisores I y tiene un nombramiento de supervisor II, coordinador de supervisores ó director. El nivel más alto tiene la responsabilidad de los programas operacionales. Este tiene un nombramiento de gerente, vicepresidente ó director del bioterio.

Se espera que todos los directores de todos los niveles posean destreza para el desarrollo de conceptos, habilidad para el manejo de personal y habilidad técnica, destreza conceptual, la capacidad para identificar y resolver problemas, pensar creativa y analíticamente y desarrollar planes a largo plazo. La gente con destreza nos da motivación y comunicación. Habilidad para manejo de personal es la capacidad de motivar y comunicarse. Gente con ésta destreza tiene la habilidad de entender y motivar a otros para formar equipos de trabajo fuertes.

Las habilidades técnicas permiten conocer y explicar su trabajo. En un bicterio se requiere experiencia práctica con los animales, con sus necesidades particulares y destreza en el manejo de éstos, así como conocimiento de las técnicas de laboratorio utilizadas en los animales.

El poseer estas habilidades no solo es importante para identificar los niveles de dirección sino también para establecer programas de promoción ó ascenso (Fig. 1.1).



Niveles Altos  
de Dirección

Niveles Bajos  
de Dirección

Fig. 1.1 Mientras más alto ascienda el tecnólogo de animales de laboratorio en la escala de dirección, más habilidades conceptuales y menos habilidades técnicas debe usar para llenar los requerimientos del puesto. Sin embargo los tecnólogos deben, de cualquier forma poseer una amplia capacidad para el manejo de personal en cualquier nivel de dirección.



Las organizaciones tienden a seleccionar a sus trabajadores sobresalientes para nombrarlos supervisores. Por ejemplo, técnicos que tienen la mejor experiencia en los animales, y destreza para trabajar con ellos; dan tratamientos, tienen un mejor entendimiento de los procesos de la investigación, por lo que son seleccionados para ocupar el puesto de supervisor.

Una vez seleccionado éste individuo, sus actividades y responsabilidades cambian, los supervisores están preparados para enseñar y motivar a otros a mantener los animales, dar tratamientos y colaborar con los procedimientos de investigación. Algunas veces es difícil para el nuevo supervisor hacer éste cambio. Una perfecta comprensión de lo que se espera de ellos como directores es decisivo para un cambio exitoso.

La administración involucra 5 fases independientes pero de igual importancia:

- Planeación.
- Organización.
- Dirección.
- Control
- Manejo del Personal.

En la etapa de planeación el supervisor ayuda a elevar las metas del director para la unidad; El o ella determina que va a ser en la unidad y a que nivel de productividad. Una vez que se tienen ya las metas, el supervisor organiza el trabajo asegurando que las metas se puedan alcanzar. Después establece un plan de acción. El supervisor lleva a cabo el plan dirigiendo al personal que trabaja en la unidad. Para un control efectivo el supervisor evalúa el progreso de la unidad a intervalos regulares asegurando que se dirige hacia las metas establecidas. Finalmente el supervisor fomenta las habilidades del personal de la unidad, los ayuda a desempeñar un mejor papel en su posición actual y los prepara para una posición con más responsabilidad en el futuro.

Una mirada minuciosa a éstas 5 funciones de manejo revela como se relacionan con las responsabilidades del supervisor ó el TGAL.

#### **PLANEACION.**

La mayoría de los puestos ocupados por TGAL se encuentran en los niveles bajo y medio.

Sin embargo el nivel de dirección más alto, usualmente se fija como una meta, estipula y proporciona las directrices generales sobre como lograr los objetivos.

Por lo tanto determina los tipos de investigación que conducirá, los tipos de animales que se usarán ó si la unidad será para producción de colonias ó para experimentación.

Aunque muchas de las metas básicas serán establecidas por usted como TGAL su conocimiento de las instalaciones, influencia sobre el personal y conocimientos sobre los animales de laboratorio le permiten estar en la posición de auxiliar y proporcionar

información valiosa a los niveles superiores de dirección; por ejemplo, sobre los requerimientos de la producción y capacitación de personal.

Es importante que se entiendan las metas que se han fijado por la unidad, porque las establecieron y como se relacionan con las metas de la Institución. Teniendo ésta información usted podrá como supervisor (TGal) dar retroalimentación que ayudará a cumplir con las metas.

#### **ORGANIZACION.**

Una vez establecidas las metas de la unidad, usted debe identificar todo el trabajo que se tiene que hacer para lograr éstas metas. Entonces debe dividir el trabajo en forma individual. El propósito de ésta fase de dirección es asegurar que todo el trabajo necesario se realice y que dos ó más personas no estén haciendo el mismo trabajo.

En todos los lugares de trabajo hay una tendencia de los empleados por hacer solo el trabajo más agradable ó interesante. Aún así es frecuente lograr el hacer las tareas difíciles y tediosas que hacen la diferencia entre una operación ligera y una con problemas continuos. Es probable que ésta división de trabajo haya sido lograda por un antecesor. Pero haciendo una nueva revisión a la organización del trabajo, es posible que como supervisor nuevo pueda obtener información importante acerca de la organización y operación de la unidad. Esto también puede ayudar a identificar problemas en algunas áreas así como sus causas.

#### **Definición del Trabajo.**

Para mantener un bioterio usted debe identificar las tareas, críticas, con el propósito de ordenarlas, cuantificarlas y distribuir la carga del trabajo. Por ejemplo: las siguientes tareas pueden aplicarse en la sección de roedores.

- 1.- Comida: todas las cajas deberán contener comida para dos días, excepto que el investigador indique otra cosa.  
La comida debe estar en los comederos a menos que existan indicaciones para colocarla en el piso de la jaula. El alimento defectuoso debe cambiarse inmediatamente.
- 2.- Agua: Revisar las botellas de agua diariamente. Todos los días de la semana excepto el viernes, cada jaula debe tener por lo menos el equivalente a una botella llena. El viernes se deben llenar todas las botellas entre la comida y la hora de cerrar.
- 3.- Cajas: Seguir el programa de cambio de las cajas.
- 4.- Pisos: Barrer y lavar diariamente.
- 5.- Filtros: Cambiarlos por lo menos quincenalmente.

### Distribución de la Carga de Trabajo.

Una vez que se determina todo el trabajo que se necesita hacer, se puede dividir la carga de trabajo razonablemente entre cada trabajador. Lo más conveniente es asignar el trabajo según su prioridad, considerando las limitaciones físicas del personal y de las instalaciones, las necesidades al ser conducida la investigación y las especies a usarse.

Limitaciones físicas del personal e instalaciones: El cuidado del animal en las instalaciones requiere de más tiempo del empleado que otros tipos de ocupaciones, ya que se necesita de una observación diaria y un cuidado casi continuo. El personal debe estar en las instalaciones 365 días al año, esto nos representa que diario debe haber personal en las instalaciones. Con frecuencia el supervisor utiliza diariamente tiempo extra para proveer de planes adecuados al personal. Las horas extras causan presupuestos escalonados, muchos empleados son reclutados a trabajar rutinariamente cada fin de semana, frecuentemente en las instalaciones se usa un sistema de rotación en fines de semana ó días festivos obligando a reducir el presupuesto y apoyando la confianza del personal.

Una persona normalmente trabajando a un ritmo razonable debe ser capaz de completar los trabajos asignados dentro del tiempo normal de horas de trabajo. Se debe permitir a los trabajadores tomar un tiempo diario para arreglar pequeños trabajos, tratar problemas inesperados, estudiar ó ayudar a otros empleados. Incluyendo éste tiempo fuera del programa sólo algunos trabajadores podrían dejar incompletos los proyectos al final del día.

Cuando se cambia la cantidad de trabajo, se debe explicar al personal el porque, la cantidad de trabajo actual es menor ó mayor, no debemos cambiar el tipo ó cantidad de trabajo sin dar razones. La cuidadosa organización, comunicación y supervisión son las claves para una apropiada distribución de trabajo.

Las limitaciones físicas de una instalación afectan la eficiencia y productividad del personal. El área de lavado por ejemplo, puede ser una restricción si éste es muy chico ó se descompone con frecuencia. Un área pequeña de lavado puede provocar que más de una persona trabaje en esto ó puede limitar el número de cajas que pueden ser lavadas al mismo tiempo. La cantidad de equipo accesorio disponible puede también limitar la eficiencia del personal. Por ejemplo, si no hay suficientes lugares para lavado, los técnicos tendrán que esperar su turno para usar el equipo existente.

Las instalaciones mismas pueden también limitar la productividad del personal. Si la instalación es vieja, el personal tiene que estar inactivo un tiempo mientras esperan que el equipo se repare ó cambie, esto es un problema raro si la instalación asignada es nueva y eficiente. Si la instalación es saturada, la operación de manejo del animal se hace más lenta por la carencia de espacio donde mover los animales y equipo.

Por otro lado si la instalación es llena solamente a la mitad de su capacidad, el equipo y animales quizás puedan ser esparcidas para permitir un manejo y cuidado eficiente. La productividad de extremo a extremo de la instalación generalmente es superior si todo el equipo de mantenimiento se conduce en forma individual, antes de que se centralice en unidades satélite esparcidas. Cuando programamos las faenas de trabajo fuera de las instalaciones, debemos identificar las posibles variaciones que puedan resultar de los cambios en el tiempo. Cuando éstos cambios ocurren, quizás por demandas inesperadas por el espacio programado para el personal de la instalación, se debe permitir que tales circunstancias se distribuyan en el espacio y carga de trabajo planeado.

El tipo y cantidad de cajas disponibles puede repercutir en el horario y labores del personal. La mayor parte de los trabajadores desearían tener todas las cajas extras necesarias en la instalación, pero el presupuesto del bioterio puede ser limitado.

Supervisores y directivos deben considerar el tiempo requerido para el cambio de cajas. Por ejemplo, es más eficiente el cambio de cajas en los cuartos, si tenemos un estante al lado limpio y completo, que si hacemos los cambios en pequeños grupos de cajas ó pieza por pieza. Sin embargo la falta de limpieza de cajas extra puede forzar al técnico a cambiar las cajas de los estantes sección por sección.

Requerimientos de Investigación: Los comités de unidades de cuidado animal proveen a los investigadores con animales, de un medio ambiente en la instalación que permite se conduzca una investigación valiosa. El horario y labor del personal son directamente afectadas por las necesidades de; dietas especiales, horarios de alimentación estrictos, regímenes de peso inusuales, tiempo de descanso o enjaulado inusual, restricciones de ciclos de luz, niveles de ruido limitados, programas de recuperación postquirúrgica intensiva, procedimientos quirúrgicos inusuales, zonas de aislamiento y uso de agentes biológicos peligrosos. Estos factores también afectan el número de horas y el tiempo diario de trabajo del personal. Todos deben trabajar juntos si los proyectos de investigación son rápidos. Un apropiado horario acorde a las necesidades técnicas de varios proyectos de investigación evita innecesarias confrontaciones e interrupciones.

Requerimientos de Especie: Cada especie del laboratorio animal tiene ciertas necesidades que se deben cumplir para que el medio ambiente del bioterio sea el adecuado. Por ejemplo, los perros deben de ser capaces de interactuar con otros perros y con los humanos. Las colonias reproductoras de roedores generalmente requieren de bajos niveles de ruido. Los cerdos son animales sociables, por lo tanto no prosperan bien cuando se aíslan visualmente de otros de su especie. Los reptiles frecuentemente requieren una fuente de calor suplementaria.

Un plan apropiado para el personal y sus labores no sólo debe considerar las necesidades de los animales sino también las

necesidades de los técnicos que los manejan. El uso de equipo auxiliar como, palos, guantes, correas y jaulas de transporte, necesita de tiempo adicional para su manejo. El temperamento de los animales también afecta al personal y a la distribución de los trabajos asignados. Algunos animales silvestres, por ejemplo, pueden requerir de técnicas especiales de manejo y más manejadores de los requeridos para animales criados en los laboratorios.

#### DIRECCION

La función de la dirección es dirigir, incluyendo supervisiones diarias de empleados y trabajo. Muchos supervisores ven la productividad y el empleado como dos cosas distintas. Sin embargo los científicos Robert Blake y Jane Mouton especialistas en conducta han desarrollado un modelo de manejo que enfatiza la igualdad entre la productividad y el empleado. Estudiando la amplia variedad de organizaciones, ellos encontraron que el manejo más efectivo sería en realidad, dar igual importancia a las necesidades del empleado y las necesidades de una alta productividad. Estos manejos establecen horarios de trabajo que nos llevan a altos niveles de productividad, pero al mismo tiempo, dirigen y reconocen las necesidades de la gente que trabaja en sus departamentos. Blake y Mouton describen los problemas de balancear las necesidades de la organización con las necesidades del empleado como, vacaciones, capacitación y otros. Ellos piensan que si el supervisor enfatiza las necesidades del empleado, más las necesidades de los animales, prevalecería una atmósfera de campo con empleados felices, sin embargo podríamos tener como resultado una baja productividad y el descuido de los animales. En otras palabras, si las necesidades de los animales fueran sobreenfatizadas y las necesidades de los empleados ignoradas bajaría la moral de los empleados, aumentaría el cambio del personal y podríamos terminar con una producción baja.

Motivación del Personal : La motivación del personal es uno de los papeles más importantes del supervisor. Los supervisores deben ser capaces de proveer incentivos que estimulen al empleado dentro del trabajo, dirigiéndolos a metas específicas.

Que necesidades tiene el empleado? y que hace el supervisor para satisfacer éstas necesidades?

Algunos supervisores creen que pagándole bien a los empleados es el mejor camino para mantenerlos saludables, felices y productivos. Sin embargo ésta hipótesis puede traer problemas al supervisor. Mientras el dinero puede ser una necesidad importante, ciertamente no es la única ni la mejor motivación disponible. Abraham Malow propone que la necesidad de dinero es sólo una de una gran variedad de necesidades (fig.1.2).



**Fig. 1.2** Jerarquía de las necesidades según Maslow. No.1 representa las necesidades del empleado de menor nivel y el No.5 las necesidades del empleado de mayor nivel.

Maslow observó las razones que la gente piensa para cumplir sus deberes dentro y fuera de su lugar de trabajo. Su teoría dice que los empleados son impulsados por diferentes niveles de necesidades. Una vez que el empleado satisface sus necesidades del primer nivel, el ó ella pasan al nivel próximo superior y ya no le motivan las necesidades del nivel inferior. Las necesidades psicológicas ( nivel 1 ) son, comida vestido y alojamiento; un cheque de pago suple y pretende satisfacer éstas necesidades. Otras necesidades psicológicas tienen que ver con el medio ambiente de trabajo, uniformes, horario apropiado, descansos, días de asueto y vacaciones.

Necesidades de seguridad laboral (nivel 2) son aquellas que hacen sentir a los empleados seguros en sus áreas de trabajo. Las políticas laborales de seguridad y beneficios en el trabajo para los trabajadores así como el seguro y la paga de sus días de incapacidad satisfacen éstas necesidades. El buen mantenimiento del equipo, la facilidad de usarlo actualizando procedimientos efectivos para operarlo con adecuadas medidas de seguridad, satisfacen las necesidades de seguridad física y bienestar ó confort de los empleados.

Necesidades sociales (nivel 3), son las necesidades para sentirse valorado y aceptado por los supervisores, compañeros y subordinados.

En los Estados Unidos los congresos de AALAS, favorecen la camaradería de los empleados entre supervisores y subordinados y los envuelve en actividades tales como programas de adiestramiento o programas atléticos para satisfacer éstas necesidades.

Las necesidades de aprecio y posición (nivel 4), son las necesidades de ser reconocidos y el sentimiento de autoestima. Promociones, incremento de oportunidades para el enriquecimiento del trabajo, reconocimiento del empleado, símbolos de condición tal como una oficina privada, satisfacen éstas necesidades.

Las necesidades de actualización y realización personal (nivel 5), se satisfacen con los logros personales y realización de otras metas importantes, por ejemplo, ascender de trabajar con los animales como cuidador ó auxiliar técnico, a ser técnico supervisor ó director puede llenar éstas necesidades. En los niveles de trabajo no supervisado el sentimiento de que su trabajo contribuye a la ciencia ó la sociedad podría satisfacer ésta necesidad. Entre más tiempo pasa el empleado en su trabajo, es más probable que él o ella cumplan satisfaciendo sus necesidades de orden fisiológico y seguridad laboral. Los empleados con mayor antigüedad es más probable que trabajen en el nivel de autoestima y actualización. Para éstos empleados, el salario es solamente una motivación si esto representa estima, reconocimiento y actualización propia. Sin embargo en la mayoría de las compañías los incrementos de salario vienen en tiempos fijos durante el año y puede ser que no se relacione con el desempeño de los empleados. En éstos casos pagarles puede tener un pequeño ó no tener efecto en el desempeño del empleado. Para sacar mejor provecho en todo, un empleado debe

cooperar así como el supervisor debe estar al tanto de las necesidades del empleado. El supervisor deberá tratar de entender al empleado como persona para así identificar sus necesidades. Esto se puede lograr mejor platicando frecuentemente con los empleados acerca del mejoramiento de su trabajo. Una relación de este tipo ayuda al empleado a lograr metas personales así como avances en el trabajo.

Tener nociones preconcebidas acerca de un empleado, especialmente nociones negativas, ya sean éstas específicas ó generales, pueden evitar el mal entendimiento con el empleado, lo cual mejorará la relación con el mismo. Por ejemplo, si como supervisor asume que: (1) la gente es floja y evitará el trabajo, (2) se debe forzar al personal a la ejecución de su trabajo, (3) la mayoría de las personas prefieren éste tipo de trato. Desafortunadamente, muchos supervisores tratan a los empleados de ésta forma antes de conocerlos. Por otro lado se pueden hacer conjeturas positivas como: (1) el gasto por esfuerzo en el trabajo es natural; (2) hay otras formas de inducir a las personas al trabajo en vez de presionarlos; (3) la mayoría de las personas pueden aprender no nada más a aceptar su responsabilidad sino a buscarla.

Un supervisor que exhibe los últimos parámetros generalmente tiene empleados más productivos debido al principio de espejo, la gente generalmente reacciona para ti como tu reaccionas con ellos. En otras palabras, si se asume que los empleados serán flojos y evitarán el trabajo, el trato con ellos puede ser la única forma de inducirlos al trabajo. Por otro lado si se asume que los empleados quieren trabajar y encontrar sus responsabilidades, los empleados generalmente serán motivados así, como productivos.

¿Como pueden los supervisores usar éste conocimiento para motivar a sus empleados?. En la mayoría de las instituciones los supervisores no controlan los salarios ó prestaciones de los empleados. Por ésto ellos deben controlar otras opciones de motivación; ellos deben de encontrar la manera de alejar a los empleados de parámetros negativos en su comportamiento.

Los empleados necesitan saber de su propósito, un sentimiento de cumplimiento. El enriquecimiento del trabajo permite dar a los empleados mayor responsabilidad sin solamente darles más trabajo que hacer. Se debe incrementar la responsabilidad del empleado en proporción a su capacidad laboral. Esto se puede hacer dando al empleado la responsabilidad absoluta en un proyecto en particular. Mientras se establecen los actuales lineamientos, el empleado tendrá la libertad de incorporar sus propias ideas al proyecto. Esto le da al empleado un mayor sentido de control en su trabajo así como un mayor sentido de acoplamiento cuando el trabajo se efectuó satisfactoriamente.

Los supervisores tienen una herramienta motivadora a su disposición: pueden proveer técnicos bajo un programa de certificación y entrenamiento. En éstos programas los técnicos tienen la oportunidad de aplicar su conocimiento personal y así



avanzar a un nivel más alto de certificación.

Un programa de certificación y entrenamiento dan al técnico un sentido de éxito cuando se le proporcionan desafíos y se le recompensan sus esfuerzos.

**Tiempo de Trabajo:** Ya sea usted el director, el supervisor ó el técnico en animales, la manera en que maneje el tiempo afecta su desempeño en el trabajo y el de los demás. Todos los trabajadores disponen del mismo tiempo para desarrollar su trabajo en una jornada laboral. La gente de éxito hace el mejor uso de ese tiempo.

Una buena planeación del trabajo consiste en varios pasos, el más importante es la autoevaluación. Si conoce el tiempo que le toma lograr una tarea en particular esto le ayuda a determinar el tiempo total para cada trabajo. La hora del día puede afectar el desarrollo del trabajo. Si el rendimiento pico está entre las 9 y 11 hrs. de la mañana, lo mejor es programar los proyectos importantes a esa hora.

El primer paso para la planeación del trabajo es establecer las metas esto es, decidir que se necesita y que se requiere para logros a futuro. Empezar a enlistar cada idea que se venga a la mente, después clasificarlas en tres niveles de prioridad- alta, mediana y baja. En otras palabras; ¿que metas tienen la mayor importancia para uno y para la organización?. ¿Cuales son de mediana? y ¿cuales son de baja importancia?. Después de que se hayan establecido éstas metas, discutir las con el supervisor para asegurar que se han identificado todas las metas necesarias y que el supervisor esté de acuerdo con el nivel de importancia que se le asignó a cada meta.

El siguiente paso es identificar las tareas que son necesarias para lograr cada meta. Si se tiene un reporte para preparar el programa y carga de trabajo, en éste caso se debe ejecutar alguna investigación, preparar un esbozo del reporte, preparar un informe para su revisión por el supervisor, editar y revisar el informe y prepararlo en su forma definitiva. Enlistar cada uno de éstos pasos como una tarea.

Después de identificar las tareas necesarias para lograr cada meta se está listo para preparar un listado de actividades a ejecutar. Versiones semanales y diarias de ésta lista (fig.1.3) ayuda a mantener los esfuerzos enfocados a tareas de mayor prioridad. Estas listas sirven como herramientas y ayudan a lograr las metas. Asegurarse de disponer algo de tiempo dentro del programa para problemas imprevistos.

La flexibilidad en el trabajo en una instalación para animales es importante y saturar el programa puede afectarla. Se debe recordar siempre poner atención en el logro de las tareas y metas de mayor prioridad. Cuando se tienen 15 min. antes de una junta programada se debe procurar ejecutar una tarea que pueda ser completada en ese tiempo aunque sea de menor prioridad. Sin olvidar de cualquier manera, que 15 min. ocupados para adelantar aunque sea marginalmente en una tarea de prioridad alta es más importante que

completada en ese tiempo aunque sea de menor prioridad. Sin olvidar de cualquier manera, que 15 min. ocupados para adelantar aunque sea marginalmente en una tarea de prioridad alta es más importante que finalizar una tarea de prioridad baja. Si se encuentra que algunas tareas aparentan ser complicadas ó largas para realizarse, se recomienda dividir las en tareas más pequeñas. La estrategia de esto es siempre mirar las tareas y metas de alta prioridad; éstos son los logros que se valoran mas grandemente en la organización y tienen el mayor impacto en el trabajo de un supervisor.

Una buena forma de dar prioridad a las tareas es clasificarlas en cuales se deben, cuales se deberían y cuales te gustaría hacer. Para determinar cuan importante es una tarea hay que preguntarse "Que es lo peor que puede pasar si no hago esto". Aunque es fácil asignar alta prioridad a trabajos simples y de esta forma dejar fuera otros más importantes, este proceder inutilizará el propósito de establecer prioridades.

Para lograr las metas planeadas es forzoso empezar a realizar las tareas listadas y de mayor prioridad. La demora puede provocar que no se haga todo el trabajo de un programa planeado. Mientras el personal se demora en un tiempo u otro, ésta demora habitual puede seriamente reducir su productividad. El concentrarse unicamente en el trabajo inmediato puede ser un buen principio. Un trabajo complicado puede ser mejor llevado si se separa y se conjunta en pequeñas actividades en un tiempo determinado. Una vez empezados los trabajos complicados generalmente son más fáciles de lo que se pensaba.

**Delegación de Trabajo:** El saber como delegar las tareas a los subordinados, es la diferencia entre ser un supervisor y un buen trabajador. Desarrollar la habilidad de delegar es uno de los más importantes aspectos que un superior nuevo debe presentar. Algunos supervisores ven en la delegación una forma de salvar tiempo valioso que puede ser usado más eficazmente para mejorar otras tareas que no pueden ser fácilmente comisionadas. Los supervisores nuevos son algunas veces renuentes para comisionar trabajos, porque ellos prefieren hacer los trabajos por si mismos que dar una orden. Algunos supervisores aparentan perder el control en algunas responsabilidades asignadas, y otros son afines a algunas tareas que no quieren dejar. Para ser un superviso efectivo, se deben superar éstas apreciaciones y empezar a utilizar a sus subordinados.



Lo siguiente es un parámetro o guía para ayudar a saber cuando y como delegar nuevos trabajos ó proyectos a los subordinados :

1.- Tener plena familiaridad con el trabajo: Para una efectiva delegación, no nada más se debe delegar la responsabilidad del trabajo (actividades), sino también se debe delegar la apropiada cantidad de autoridad para lograr cumplir el trabajo. Una actividad nos lleva a una responsabilidad; éstas son las consecuencias negativas ó positivas para finalizar bien una actividad ó en dado momento no completada. Una vez que se identifican las actividades involucradas, determinar que autoridad es necesaria para completar el trabajo, y definir ésta responsabilidad; entonces el trabajo se podrá delegar. Todo trabajo lleva un registro de finalización, pero también debe llevar la anotación de cuanto tiempo se lleve en realizarlo. Si no se ha mejorado ésta actividad ó alguna similar anteriormente, se debe discutir con la gente que lo haya realizado. El buscar el consejo y conocimiento de compañeros afines puede ayudar a establecer un parámetro razonable.

2.- Decidir que trabajos delegar: Delegar cada trabajo que pueda ser efectuado satisfactoriamente por cualquier trabajador. Esta decisión requiere cuidado, pero, con experiencia, los trabajos identificados pueden ser delegados a la gente correcta.

3.- Decidir a quienes se delegarán los trabajos : distribuir las actividades a cada trabajador que esté calificado para efectuarlo. Esto proporciona participación a todos los trabajadores a practicar diferentes tareas. Con el tiempo se aprenderá en quién confiar más para determinada actividad y quién estará más interesado para desarrollarla.

4.- Explicar la actividad al empleado: antes del encuentro con el empleado, se deben tener anotaciones y organizar la manera en que se debe explicar su tarea. Cuando se explique la tarea hay que escuchar las dudas y asegurarse que todo esté entendido. En estudios se demuestra que si un empleado desarrolla una actividad por primera vez, el supervisor debe explicarsela al menos tres veces para que el empleado la entienda. Se debe explicar una actividad completamente y tan clara como sea posible, explicarla con diferentes palabras y recalcarla aún una tercera vez con diferentes palabras.

Los supervisores frecuentemente terminan una descripción de una actividad con las preguntas, "¿Se entendió?", "¿Hay alguna pregunta?" y el subordinado contesta, "Si, se entiende" ó "No, no tengo ninguna pregunta". Pero cuando la tarea es nueva el empleado no tiene la misma información acerca de la actividad para hacer preguntas. En lugar de esperar que el empleado haga preguntas, hay que preguntárselas. Debemos referirnos a los problemas que se identifican como los que va ha encontrar el empleado, y preguntar como él ó ella piensan que pueden ser manejados.

Algunas tareas se pueden asignar mejor por escrito, especialmente aquellas que son complicadas. Esto le da al empleado algo tangible a leer y así evitamos sorpresas. Debemos tomar en

cuenta que aún una descripción por escrito no asegura que la tarea esté entendida. Se necesitan revisar las actividades con el empleado y hacerle preguntas para asegurar que éstas estén bien entendidas.

5.- Revisión del progreso de los empleados: revizar el progreso de los empleados regularmente, pero sin hacerlo notar. Revizar si necesitan un apoyo adicional del supervisor ó de alguna otra persona. Proporcionarles retroalimentación positiva durante su progreso y asegurarse que tienen confianza.

6.- Hablar con los empleados acerca de la calidad de su trabajo: Después de que la tarea está terminada, el empleado debe saber como se siente su jefe ó supervisor acerca del manejo de su trabajo. No ofrezca generalizaciones acerca del trabajo, sea específico. No use frases como: "buen trabajo" ó "pudo haber estado mejor". En vez de esto, déles ejemplos específicos de que fue bueno o malo acerca del trabajo.

Cuando un empleado ha hecho un buen trabajo y si el empleado está interesado en nuevas tareas, debemos asegurarnos de asignarle más tareas a futuro como recompensa.

El empleado problema: No importa que también haya sido examinado un empleado durante el proceso de entrevista, algunos grupos de empleados frecuentemente tienen un mínimo de personal que ocasiona problemas. Los retardos son comunes en muchas dependencias. No importa cuanto se le reprima, consecuente ó se descuenta de su salario, ésta persona no cambia su comportamiento.

El despido de éste empleado debe ser manejado con cuidado y con profesionalismo, con la asistencia del departamento de recursos humanos. Este problema se describirá con más detalle en la sección del desarrollo del empleado. De cualquier manera debe considerarse el impacto del comportamiento del empleado. Si se encuentra un comportamiento insatisfactorio se debe aconsejar al empleado la primera vez que ocurre tal comportamiento. Si no se le hace notar inmediatamente, el empleado creará que su comportamiento es aceptable y no entenderá por que se identificará como un problema más adelante.

Con un empleado problema, se debe siempre recordar el erradicar ese comportamiento en la persona. El comportamiento es el problema, no la persona en forma individual. Los supervisores casi siempre relacionan el comportamiento con la personalidad; en otras palabras, ellos creen que la persona encaja bien en la unidad de trabajo por que ellos tienen una "buena personalidad".

La personalidad es vista como una cualidad inherente en un individuo. Si uno cree que la personalidad de una persona causa un problema en la unidad de trabajo, uno debe de creer que el problema no puede ser cambiado sin cambiar a la persona. Si, por otro lado, se identifican las acciones ó comportamientos particulares que no son aceptables, el empleado procurará cambiar esos comportamientos.

Los conflictos interpersonales no necesariamente son causados por empleados problema, pero casi siempre estos ocupan mucho tiempo

del supervisor. Para minimizar la cantidad de tiempo gastado en oír los diversos lados de un conflicto, el tener a los individuos involucrados que escriban ejemplos de acciones específicas que encuentran objetables acerca de los otros. Comentarios como "es muy mandón" ó "es muy rudo" no son acciones específicas. Es mejor simplemente describir a un compañero que sea mandón como "me trata de decir cuando es tiempo de quitar las jaulas del lavado. Este es mi trabajo y yo se cuando hacerlo. No quiero que haga esto por que él no es mi supervisor." De ésta forma el compañero tiene una especificación del comportamiento que otros trabajadores encuentran objetables. Mejor que describir a un compañero como rudo, el empleado debe escribir "cuando estoy hablando, se mete en la conversación y empieza a hablar de cosas personales. Esto me hace sentir que piensa que lo que tengo que decir no es importante y no me agrada."

Una vez que estas listas son compiladas y se tiene la oportunidad de leerlas, se debe citarlos a una junta entre ellos. Se debe animar a los empleados a que dialoguen primero sin la presencia del supervisor. Hay que dejarlos tratar de discutir las soluciones posibles a éstos problemas y que escriban sus soluciones. Si esto falla para resolver el problema la mediación del supervisor será necesaria. Utilizando éstos escritos dan algunas soluciones a los empleados.

Hay que escribir éstas soluciones y dar a cada empleado una copia. Asegurarse que todos los empleados cumplan con su parte. Engranar sus asignaciones para no denotar como una solución el que ellos no trabajen juntos, pero casi siempre esto acarrea un problema en dos diferentes unidades de trabajo.

**Variedad de Trabajo:** Para que una dependencia opere eficientemente debe tener un personal bien entrenado y un bajo número de rotación de turnos. La rotación de turnos puede ser reducida previniendo confinamientos y actividades tediosas. La flexibilidad es la solución. En casi todos los bioterios la mayoría de los trabajos pueden ser programados para cualquier hora del día. No tratar de programar un trabajo en particular (por ejemplo, cambiar jaulas de ratones ) a una misma hora todas las semanas, siempre y cuando las jaulas estén limpias y el cambio no interfiera con los programas de investigación, éstas pueden ser cambiadas por ejemplo, el miércoles en la mañana, martes en la tarde ó el martes en la mañana. Lo mismo es aplicado para las horas de trabajo.

Un tiempo flexible, ó permitir a los empleados escoger sus propias horas de trabajo con diversas opciones pueden incrementar la productividad de la unidad. Este concepto de programación permite el hecho de que la productividad individual varíe con la hora del día; algunas gentes trabajan mejor en la mañana, mientras que otros pueden necesitar un tiempo extra para lograr su desempeño máximo. El tener establecidas las horas de inicio como, "algunos empleados empiezan a trabajar a las 7:30 am., algunos a las 8:00 am., y otros aún más tarde" pueden resolver otros problemas en la programación. El tiempo flexible también resuelve el problema de

tener adecuado control de personal por períodos más largos durante el día de trabajo. Una efectiva comunicación con el personal es necesaria para mantener el sistema de tiempo flexible bajo control, especialmente en bioterios grandes ó descentralizados.

Para reducir el tedio en el trabajo entre los técnicos hay que motivarlos a preguntar acerca de los proyectos que se llevan a cabo en la instalación. Hay que darles resúmenes básicos y entendibles de los proyectos de investigación en los que ellos están participando. Cuanto más entiendan acerca del proyecto de investigación más cuidadosos deben de ser.

Ayudarlos a reconocer cuan importantes y responsables son para el éxito de los proyectos de investigación. Dar frecuentes planificaciones escritas para ampliar su conocimiento. Empezar con lo básico; por ejemplo, como administrar una inyección ó calcular la dosis de una droga. Después seguir a tareas de nivel superior como asistencia en cirugía. Entre más conozcan más pueden hacer, reduciendo a cada uno la carga de trabajo. Motivarlos a tomar cursos. Hacer comentarios de sus programas de trabajo durante el curso, especialmente si el curso es de entrenamiento en cuidado de animales. Reconocer la necesidad de que la educación es parte del mejoramiento del trabajo.

Los días no laborables y las vacaciones pueden causar problemas en la programación. Para evitar éstos problemas se debe de planear efectuando una lista de los días no laborables y vacaciones del todo el año. Entonces programar con anticipación que individuos van a trabajar en esos días. Esto permite a cualquiera tener el tiempo suficiente para planear correctamente y previene el no notificar al empleado a tiempo. Si se presenta algún hueco sin cubrir del programa se debe llenar por rotación de empleados. Permitir al personal cubrir el turno de otro por común acuerdo, con el conocimiento y aprobación del supervisor. Si no se puede dar tiempo extra debemos asegurarnos que los empleados estén programados para un tiempo compensatorio apropiado a su conveniencia durante un tiempo razonable. Cuando todavía surgen requerimientos que sean conflictivos hay que usar un procedimiento operacional estándar para determinar que empleado obtiene el permiso requerido. Este procedimiento estándar se puede basar en una selección previa ó al azar.

#### **CONTROL.**

El control evalúa continuamente los progresos de la unidad, basados en sus metas, así como la evaluación del personal dentro de la unidad. Para conducir una revisión efectiva del desarrollo, se necesita proveer de tres diferentes tipos de evaluación y retroalimentación al empleado: informal ó sobre la marcha, periódica y anual. Un completo entendimiento de los mecanismos de un buen sistema de evaluación es también importante para una relación exitosa.

Un buen sistema de evaluación del desarrollo, requiere una descripción que claramente especifique las actividades esperadas de

un empleado e incluye mejoramientos estándar que contengan el nivel de mejoramiento esperado para cada tarea. Una entrevista de valuación, incluye no solamente la revisión del trabajo del empleado, sino proporciona al empleado una oportunidad para expresar sus propios méritos.

Evaluaciones informales ó sobre la marcha: A lo largo del año, casi diariamente, se debe proporcionar retroalimentación a los empleados acerca de como van mejorando en su trabajo. Este tipo de evaluación se debe efectuar en el área de trabajo del empleado, en privado, sin la presencia de otros trabajadores y debe ser específica y breve. Se debe decir por ejemplo: "Ud. es muy confiable en el manejo de esos animales, es exactamente como deben manejarse." Si la retroalimentación es negativa, tratar de expresarla en tiempo futuro ó en términos proximales. Por ejemplo, se debe decir: " Cuando sujete al animal la próxima vez, trate de hacerlo de ésta manera." La evaluación debe evitar etiquetas de bueno ó malo. Se enfoca en la acción, no se juzga.

Evaluaciones Periódicas: De dos a cuatro veces al año uno debe sentarse con los trabajadores en el área de trabajo del supervisor para discutir todo el mejoramiento de los trabajadores. Este es el momento de detectar áreas con problemas y desarrollar planes para corregir cualquier deficiencia en el desempeño del trabajo.

Se debe recomendar cualquier programa de entrenamiento que ayude al empleado a corregir el problema. Es también una oportunidad para detectar los logros durante el período de trabajo. Esta debe ser una revisión breve y confiable, especialmente si no hubo problemas. Estas breves revisiones pueden proporcionar tanto al empleado como al supervisor una invaluable información que puede ser útil durante la revisión anual.

Evaluación Anual: Los tecnólogos del bioterio son casi siempre los responsables de conducir los programas de evaluación de los empleados subordinados. Una evaluación del desarrollo puede ser una situación muy tensa tanto para el supervisor como para el empleado. Si las evaluaciones periódicas ó sobre la marcha se han efectuado durante el año, el nivel de tensión durante la revisión anual es significativamente menor, que si éstas evaluaciones no hubieran ocurrido.

Descripción del Puesto: La descripción del puesto proporciona un cuadro básico de trabajo para una evaluación del desempeño del trabajo. Este debe establecer con detalle las responsabilidades específicas de trabajo de éste puesto. La descripción del puesto es generalmente limitada a no más de siete tareas completas, siendo la última, siempre algún otro trabajo afín requerido.

En algunos bioterios se ha probado como benéfico definir la descripción del puesto en forma general para empleados que desarrollan tareas similares. Por ejemplo una institución puede tener 50 técnicos en la categoría de técnicos de animales. La descripción debe incluir tareas como limpieza de jaulas y mantenimiento, manejo animal y varias formas de trato a los



animales. Algunos técnicos desarrollan una ó todas las tareas en el curso de su programa regular de trabajo, pero deben estar listos para efectuarlas cuando sea necesario. Este tipo de descripción del trabajo es particularmente útil porque permite a la institución mover empleados de un área a otra sin desarrollar una nueva descripción del trabajo.

Otras instituciones optan por tener la descripción del puesto enlistando las tareas específicas de los empleados. En cualquier caso la descripción del puesto debe proporcionar al empleado y al supervisor un claro entendimiento de las tareas esperadas por el empleado, sin crear rigidez que limite el desarrollo del empleado.

Desarrollo de Estandares Sobre la Marcha: Debido a que el trabajo está lleno de interrupciones, los programas cambian por alguna emergencia, por lo que es difícil establecer estandares en el desempeño del trabajo de cualquier empleado. Con una planeación cuidadosa, de cualquier manera, es posible desarrollar guías específicas que sean medidas y logrables.

El trabajar bajo estandares no especificados, como "El empleado tendrá buen cuidado de los animales," ocasiona que las personas sean guiadas por ideas personales de lo que consideraran buen cuidado. Hay que precisar los estandares, es decir, establecer los elementos específicos de un buen cuidado y asegurarse de la cooperación del empleado en mantener éstos estandares. Una buena y específica descripción de los estandares puede ser la siguiente:

- 1.- Los cuartos asignados para perros deben estar listos antes de las 10.00 a.m.
- 2.- Las jaulas y los pasillos deben ser lavados con detergente y secados. Los bebederos lavados y llenados diariamente.
- 3.- Los pisos deben ser secados con un jalador de goma.
- 4.- Los perros serán sacados de sus jaulas durante el lavado para evitar mojarlos. Durante éste tiempo podrán hacer ejercicio ó ser colocados en otra jaula según sea su condición.

Los estandares serán inútiles a menos que puedan ser medidos. Al desarrollar estandares se debe preguntar, ¿Es posible inspeccionar un área para determinar no solamente si la tarea fue efectuada, sino a que conyeva?. En los estandares anteriores, la persona que inspecciona el cuarto debe ser capaz de determinar nada más si el cuarto fue limpiado, sino si se hizo un esfuerzo para quitar residuos pegados en el piso y si los perros fueron o no transferidos adecuadamente.

Un estándar establecido es tan importante que el promedio de empleados no deben tomarlo a la ligera. Para ser aceptables, los estandares deben ser realizados por empleados que deseen efectuarlos. Los estándares para niveles más altos de desempeño debe ser un desafío razonable para la generalidad de los empleados, así como logrado por un empleado excepcional quién pone atención a su trabajo. Para que el desempeño de estandares sea una parte viable de un sistema de valuación, debe de haber un mecanismo para

chechar las áreas asignadas regularmente.

Evaluación Anual del Desempeño de Estandares : Además de establecer los niveles ó estandares de desempeño sobre la marcha, se necesita identificar los niveles que los empleados deben conocer para que el nivel sea considerado satisfactorio, más que satisfactorios ó menos que satisfactorio. Estos niveles deben estar engranados con el trabajo cotidiano y deben identificar su alto y bajo desempeño. Lo siguiente es un ejemplo del criterio que un empleado puede tener que cumplir para obtener una evaluación satisfactoria en cualquier período de evaluación:

1.- El empleado no debe haber recibido más de dos revisiones con deficiencias menores al mes en el período.

2.- El empleado habrá recibido no más de dos revisiones con deficiencias mayores por año.

3.- El empleado deberá haber recibido más de dos recomendaciones por escrito en un período de doce meses.

4.- El supervisor no debe recibir más de dos quejas legítimas de los investigadores ó de los técnicos de investigación en un período de doce meses.

5.- Las asignaciones especiales tendrán que haber sido completadas en un término de cuatro días a menos que se haya dado una alternativa específica.

6.- Las rotaciones en el mantenimiento de los cuartos deberán haberse completado según el programa.

Lo siguiente es un ejemplo de un criterio de más alto nivel que puede establecerse para un empleado que va a recibir una aprobación sobresaliente para cualquier período de evaluación :

1.- El empleado no debe haber recibido más de dos revisiones con eficiencias menores al mes durante el período.

2.- El empleado no debe haber recibido más de una revisión con eficiencia mayor al mes durante el período.

3.- El empleado no debe haber recibido más de dos recomendaciones de mejora por escrito durante el período.

4.- El supervisor no debe haber recibido ninguna queja legítima de los investigadores ó de los ayudantes de investigación por un período de doce meses.

5.- Las asignaciones especiales deberán haber sido completadas en un término de cuatro días, a menos que existiera otra indicación.

6.- Haber realizado rotaciones para el mantenimiento de los cuartos según el programa.

Metas Personales: para personalizar una evaluación y hacerla una

experiencia positiva para el empleado, las metas personales del empleado deben ser fijadas para el próximo periodo de evaluación. Las ideas para éste acuerdo informal pero escrito deben de venir tanto del empleado como del supervisor. Algunos empleados son reuentes para expresar interés en el entendimiento de un proyecto en particular, aprendiendo una nueva habilidad como una asistencia quirúrgica, atender una clase, ó hablar de un curso que estudió. Como supervisor se debe tratar de interesar al empleado. Después de todo, es una oportunidad ideal para que pruebe que está preocupado por el trabajo satisfactorio del empleado.

Metas personales, como aquellas establecidas en los contratos, deben ser la base para un trabajo de estandares más elevados. El contrato no debe ser usado para minimizar la evaluación de un empleado que está haciendo un trabajo aceptable.

Ellos deben ser de cualquier manera, considerados con un "crédito extra" ; esto es, pueden elevar un empleado pero no bajarlo.

El supervisor que demuestra un interés continuo en los progresos del empleado conociendo sus metas, puede incrementar significativamente la satisfacción por el trabajo del empleado y el deseo a avanzar dentro del campo de la ciencia de los animales de laboratorio.

La Entrevista de Evaluación Anual: Es imperativo que la capacidad del empleado sea enfatizada en una entrevista formal de evaluación. Al mismo tiempo, no se puede ignorar las deficiencias en el desempeño del trabajo. Si se puede evitar mencionar la palabra "pero..." al final de un estatuto complementario, el empleado puede continuar oyendo y sacar provecho de la entrevista.

Una entrevista de evaluación efectiva comienza con revisar la capacidad del empleado. La entrevista se sitúa entonces en las deficiencias, da soluciones a los problemas y termina con el acto positivo de establecer metas personales. El empleado tendrá la oportunidad de comunicar su opinión, sentimientos, ó sugerencias. El entrevistador debe practicar el arte de escuchar; esto es, que debe estar seguro que lo que oyó es lo que el empleado quiere decir. Se debe expresar lo que el empleado ha dicho y entonces preguntar si está bien interpretado. Estas son tácticas que ayudan a reducir ansiedad en lo que es a lo mejor, una situación estresante.

#### **MANEJO DEL PERSONAL**

La selección ó el desarrollo del empleado es una de las principales responsabilidades de los supervisores en una instalación para investigación animal. El saber como conducir entrevistas para emplear o como contratar, despedir o motivar al personal, puede ayudar al supervisor a mantener más efectiva la productividad de los empleados.

Entrevistas: La entrevista es una parte crucial del proceso de contratación porque el entrevistador representa a la institución

como el contratante. Así como el aspirante debe tener una buena impresión para el entrevistador, el entrevistador debe dar una buena impresión al aspirante. La forma en que se conduzca la entrevista puede tener un mayor impacto si el entrevistador siente ó no que el aspirante ha sido tratado francamente y quiere tomar el trabajo. Se necesita que el aspirante sienta que va ha ingresar a una organización profesional. Para proyectar una imagen profesional se debe ser conciso y claro con el aspirante. Una de las mejores formas para obtener el prototipo de la persona requerida en la instalación es a través de una entrevista honesta.

El estar bien preparado es la llave para una entrevista exitosa. Se debe saber exactamente que se va a discutir y discutirlo con la mayor precisión posible. La razón de una entrevista es el contratar a una persona para cubrir un trabajo, no nada más conocer al aspirante. Como entrevistador, se debe ser cordial pero no desviarse del punto de discusión, que es para determinar si el aspirante está calificado para cubrir el puesto. Dejar que el aspirante hable es la mejor forma de conocer lo que se necesita saber de él.

La descripción del trabajo y los antecedentes del aspirante deben ser los puntos principales de una entrevista. Cuando el aspirante llegue a la entrevista, se le debe dar la oportunidad de completar su solicitud de trabajo y leer la descripción del trabajo. Así, cuando el entrevistador empiece, el aspirante entiende el trabajo y se tendrá información acerca de la experiencia previa del aspirante. Este mutuo entendimiento ayuda a dirigir la discusión.

Se debe obtener toda la información pertinente necesaria acerca del aspirante; de otra forma, será difícil efectuar una contratación inteligente.

La mejor forma para asegurar una entrevista exitosa es el desarrollar una guía para entrevistas de pre-empleo.

Esto ayuda al progreso de la entrevista en una manera ordenada, sin perder ningún aspecto importante. Por ejemplo, como adición al discutir los requerimientos del trabajo, se deben saber todas las reglas y políticas de la instalación que aplican al candidato. Se debe ser capaz de contestar correctamente acerca de los beneficios de sus prestaciones, vacaciones, incapacidad y uniforme. Puntos a incluir en una guía para una entrevista de pre-empleamiento son:

- . Los conocimientos del aplicante acerca del uso de animales de investigación.

- . La importancia del puesto en términos de la conducción de la investigación y sus instalaciones.

- . Experiencia de trabajos pasados relacionados con el puesto.

- . Su formación educativa relacionada con el puesto.

- . Consideraciones de salario como el rango de salario actual y posibles promociones futuras.

- . Condiciones de trabajo, como horarios, condiciones médicas en

la instalación y posibles lesiones.

. Requerimientos físicos para el puesto.

Se debe tener precaución en discutir acerca de los requerimientos físicos del puesto. Una lista de requerimientos físicos debe ser desarrollada para cada trabajo. Esta lista puede incluir puntos como:

. El empleado debe ser capaz de levantar bolsas de 25 kg. de alimento.

. El empleado debe ser capaz de levantar animales que pesen 15 kg.

. El empleado debe ser capaz de alcanzar jaulas que están a un metro con cincuenta y cinco cm. del suelo.

Leyes federales, estatales y locales prohíben contratar con discriminación ó desventaja. Por ejemplo, un contratador no debe de rehusar a contratar un aspirante que esté en silla de ruedas. Si el trabajo requiere el levantar ó cargar cosas pesadas ó alcanzar ciertas alturas, la discusión se debe enfocar en que si es ó no posible para el aplicante cubrir éstos requerimientos. En otras palabras, una discusión de requerimientos físicos debe ser acerca de las capacidades requeridas en lugar de la incapacidad ó inhabilidad del aplicante.

Al conducir con éxito una entrevista no debe haber discusión de información personal. Afiliaciones religiosas, estado civil, edad, número de hijos, cuidado de los hijos, pasatiempos y otras informaciones personales no deben de entrar en un proceso de entrevista formal. Dicha información puede desviar al entrevistador.

Contratación: El contratar un nuevo empleado es una de las más importantes decisiones que un supervisor debe hacer. Es una decisión que puede tener un gran impacto en la operación diaria de la instalación. Como supervisor, se debe decidir que persona es la mejor para el trabajo. El aspirante debe ser capaz de encajar en la estructura del personal de la instalación, no nada más ahora sino también en el futuro.

Cuando se contrate un nuevo técnico no se debe bloquear a un candidato que no es tan perfecto ahora pero tiene la posibilidad para perfeccionarse más adelante. Por ejemplo, un candidato que esté sobrecalificado puede hacer un mejor trabajo mientras más responsabilidades son adicionadas al puesto, que un candidato que apenas conoce los requerimientos presentes.

Una vez que se selecciona un candidato se debe proveer de una descripción escrita formal del trabajo y un manual a estudiar. El nuevo empleado tendrá la oportunidad de estudiar este material antes que el proceso de familiarización del trabajo comience.

Despido de Empleados: Muchos supervisores aborrecen despedir un empleado (una acción que les gustaría evitar), de cualquier forma

es una responsabilidad que la mayoría de los supervisores tendrán que enfrentar durante su carrera. El despido es generalmente la opción final que sigue de una progresión de acciones disciplinarias como reprimendas verbales, escritas, suspensiones y el bajar su categoría. El despido generalmente tiene lugar bajo circunstancias poco cordiales. Por lo que es imperativo que se tengan bases sólidas legales antes de despedirlo. Los empleados que sienten que han sido despedidos injustamente, pueden tomar una acción legal en contra de la institución ó el supervisor. Los supervisores deben evitar tener decisiones precipitadas que puedan llevar a una acción legal en contra de ellos mismos ó su institución.

Considerando los numerosos documentos legales que envuelven el despido de un empleado, es importante que el supervisor tenga un amplio conocimiento de las políticas de la institución antes que cualquier acción similar llegue a ser necesaria. Todos los nuevos supervisores deben estar en contacto con el departamento de personal ó de recursos humanos para, discutir las políticas de la institución respecto a disciplina y despidos, haciendo preguntas utilizando tantos ejemplos como sea posible de problemas que el nuevo supervisor pueda encontrar. Muchas compañías siguen una progresión de tres pasos; prevención verbal, prevención escrita y despido. Leyes estatales y locales ó contratos sindicales pueden alterar ésta progresión y los supervisores pueden encontrarse con empleados no satisfactorios a quienes no pueden despedir por un error de procedimiento.

Es importante tener todos los hechos antes de tomar una decisión final para despedir un empleado. Como regla general, las ordenes de despido son generalmente revertidas tanto por las compañías ó los tribunales. Suponer por ejemplo, que un supervisor oye de un técnico A que el técnico B está maltratando a los animales. La primera reacción del supervisor será el correr al técnico B sin vacilar. De cualquier manera, es la responsabilidad del supervisor el investigar estas afirmaciones antes de decidir el curso de la acción. Una vez que se obtengan suficientes pruebas y que sean soportadas, el supervisor puede proceder a una acción adicional disciplinaria, pero únicamente de acuerdo con las políticas del departamento de personal ó recursos humanos de la institución. Los empleados de recursos humanos generalmente son profesionales capacitados para manejar éstas situaciones. Pueden proporcionar una ayuda valiosa, especialmente en desenredar un conflicto. El supervisor puede colocar a la institución en un posible riesgo legal y perder un empleado valioso si la situación no es manejada apropiadamente.

Se debe tener un listado de los problemas que se hayan tenido con un empleado, desde el primer encuentro negativo hasta el despido del empleado. Los objetivos escritos de los desempeños y de las evaluaciones regulares de la oficina de personal de la institución proporcionan la evidencia necesaria. Las evaluaciones deben de notar las deficiencias del empleado y deben ser firmadas por el empleado para certificar que estas deficiencias le fueron

presentadas. Una apropiada comunicación puede también tomar la forma de una reprimenda ó una prevención escrita. Hasta las prevenciones verbales deben ser documentadas, las cuales pueden parecer como una contradicción en términos. Pero si las políticas de la compañía requieren de prevenciones verbales como primer paso, un apropiado modo para probar que las prevenciones verbales han sido dadas es presentarlas por escrito, firmadas y que el empleado también las firme.

Es importante que se aconseje y eduque al empleado muchas veces durante el año, como se indica en "Desarrollo de estandares sobre la marcha" de la fase de Control, presentada con anterioridad. Esta práctica asegura que el empleado ha tenido tiempo suficiente para corregir deficiencias antes de una acción rigurosa como el despido.

A continuación se presenta una lista de ideas a revisar antes de correr a un empleado. Esta guía puede ayudar a decidir si existen causas para despedir un empleado.

.El empleado ha sido advertido por la compañía de las posibles consecuencias disciplinarias.

.Se hizo un esfuerzo razonable para demostrar al empleado que su desempeño no fue satisfactorio y el empleado tuvo oportunidad para corregir su desempeño.

.La investigación de la compañía fue conducida de una manera honesta y objetiva.

.La investigación encontró pruebas de negligencia, incompetencia ó infracción a las reglas.

.La institución trato al empleado de la misma manera que a otros bajo circunstancias similares.

.El historial del empleado y las circunstancias mitigantes fueron consideradas.

.La medida disciplinaria se ajusta al tamaño de la infracción.

## IDENTIFICACION Y CONTROL DE COSTOS

Los supervisores en los bioterios, frecuentemente son los responsables para desarrollar o asistir en el desarrollo de presupuestos ó en su operación realista. Esto requiere los registros de compras y un amplio conocimiento de los costos de operación y mantenimiento de las instalaciones. Un registro escrito de los gastos, salidas de almacén y entregas a cada uno de los diferentes servicios o partidas presupuestales, proporcionan la base para el presupuesto y la predicción de los costos para los futuros periodos fiscales.

Los procedimientos del analisis de costos para los programas veterinarios en los Estados Unidos, se basan generalmente en el libro: "Manual para el Analisis de Costos y establecimiento de precios para los Bioterios" (Cost Analysis and Rate Setting Manual for Animal Resource Facility), publicado en 1979 por el Departamento de Salud de ese país (este libro desde hace mucho no se ha reimpresso, por lo que no se le encuentra en librerías, pero siempre existen copias disponibles para consulta y fotocopia en las bibliotecas de todas las instituciones). El procedimiento básico de todo análisis, consiste en determinar la lista de todos los costos y erogaciones asociados con el bioterio, aunado a la identificación de gastos para cada una de las actividades y partidas presupuestales del bioterio. Estas actividades y las partidas presupuestales pueden incluir el lavado de la jaula, la eliminación de la basura, el cuidado de la salud del animal, o la cria y producción de animales. Para el análisis de costos, ya sea con base en el establecimiento de los cargos ó para el precio de los servicios, las erogaciones deben ser cargadas a las actividades o partidas presupuestales que producen un producto o un servicio por el cual se puede establecer un pago. Por lo tanto, en un análisis de costos detallado, uno debe cargar los gastos de las actividades por las cuales usualmente no existe un cargo directo (por ejemplo gastos de administración) a las actividades que puedan generar honorarios y cargos por servicios, como pueden ser los cargos por alimentación y cuidados diarios.

Este capítulo presenta la metodología general para enlistar, asignar y distribuir los costos, mostrando procedimientos en un ejercicio práctico. Este capítulo también describe la determinación de los costos unitarios y su relación a la recuperación de gastos.

### CONTABILIDAD

El presupuesto de cualquier tipo de bioterio, refleja la naturaleza de la instalación y su estructura de operación. Las instalaciones pequeñas y centralizadas son más fáciles de revizar y



evaluar que las instalaciones grandes; también son más económicas de operar. Las instalaciones grandes frecuentemente experimentan alguna descentralización, lo cual incrementa el costo de mantenimiento, manejo gerencial y el control fiscal.

Un mayor número y tamaño de la población animal, así como un incremento en el número de las especies albergadas, introducen muchas variables en los requerimientos del mantenimiento.

Los servicios anexos como radiología, cirugía y laboratorios de diagnóstico, requieren el apoyo de personal, equipo y suministros especializados. Cuando este tipo de servicios son proporcionados por el bioterio directamente, se deben crear los centros de costo ó partidas presupuestales correspondientes.

#### **Los Requerimientos Estadísticos para el Análisis de Costos**

Es provechoso para quien realiza el análisis de costos, reunir la mayoría o todas las necesidades estadísticas antes de comenzar los cálculos definitivos. Frecuentemente es responsabilidad del tecnólogo en animales de laboratorio reunir y resumir la información estadística necesaria, basada en las consideraciones locales de manera similar a como se les menciona a continuación:

1. Los informes del personal.
  - a. Informes de actividad.
  - b. Distribución del tiempo de supervisión.
  - c. Estudios del consumo de tiempo del personal técnico.
2. Metros cuadrados por área.
  - a. Calcular los metros cuadrados destinados para cada especie siempre que sea posible.
  - b. Calcular el tamaño de las instalaciones auxiliares separadas del edificio central.
3. Las jaulas totales disponibles, por especie.
4. Plan del lavado de jaulas, por especie y el número de jaulas lavadas.
5. Días en residencia de los animales, por especie.
6. Cantidad de alimento consumido, por animal por día.
7. Cantidad de cama usada, por animal por día.
8. Cantidad de basura producida, por tipo.
9. Número de pruebas de laboratorio desarrolladas, por tipo.
10. Tiempo necesario para el desarrollo de las pruebas de laboratorio, por tipo.
11. Número de unidades de servicio (rayos X, cirugía etc.) y pruebas de laboratorio solicitadas.

### La Acumulacion del Costo Total

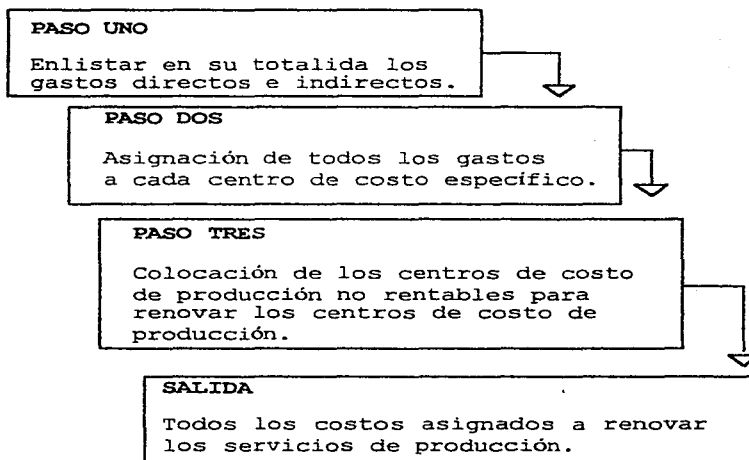
La acumulación del costo total involucra tres pasos. El primer paso requiere, la lista de todos los gastos directos e indirectos ocurridos durante el periodo fiscal bajo estudio. El segundo paso requiere, que todos los gastos listados en el balance de la prueba sean asignados a los centros de costo. El paso tres requiere, que todos los gastos acumulados en los costos de producción no rentables (sin ingresos) sean asignados a los centros de costo de producción redituables (con ingresos) (Figura 2.1). Una revisión general de estos pasos proporciona la base para la comprensión del listado, la asignación y los procedimientos de distribución.

Primer Paso: Prepare el balance inicial. Listar todos los gastos directos e indirectos incurridos por la instalación en el mantenimiento de sus operaciones para el año fiscal bajo estudio.

Paso Dos: Asignar a los centros de costo todos los gastos listados en el balance inicial. El director que estudia el análisis de costos, usualmente hace las descisiones administrativas con respecto a la identificación específica de los centros de costo. La asignación y colocación del gasto a los centros de costo, determina las bases sobre las cuales el bioterio espera establecer precios unitarios y métodos de financiamiento de acuerdo a las políticas institucionales.

Paso tres: Ubicación del costo total como se desarrolló en los pasos uno y dos, a partir de los centros de costo sin ingresos. Un centro de costo con ingresos generalmente produce un servicio ó producto por el cual se puede establecer un precio unitario. La principal característica de un centro de costo sin ingresos, es que no permite recobrar ingresos para cubrir su costo, con base en una cuota diaria o un arreglo de cargo por servicio.

Por lo tanto, la metodología para los estudios de costo requiere ubicar en los centros de costo con ingresos, el costo total acumulado de los centros de costo o partidas sin ingresos o sin retorno. La ubicación de los costos como se indica en éste modelo, identifica centro de costo por servicios sin ingresos y otros centros de costo sin ingresos; por lo que éstos tipos se localizan y se efectúan antes de la ubicación final de los centros de costo sin ingresos, en los centros de costo con ingresos. Este método de ubicación de costos se conoce normalmente como procedimiento cuesta abajo.



**Figura 2.1** Un establecimiento lógico de costos y el desarrollo diario requieren que todos los costos de la instalación sean asignados al ingreso de un centro de producción. El proceso de asignar un obvio (directo) ó menos obvio (indirecto) gasto a un centro de costos a una particular especie ó centro de servicios es llamado "Stepin down" (caminar cuesta abajo).

### **Los Métodos Institucionales de Recuperación de los Costos**

Previo a la evaluación de un plan de clasificación de costos diarios, es necesario definir los métodos de recuperación de costos, considerando: la cantidad del apoyo interno; los gastos de producción sin ingresos; la compra de jaulas y equipo, la depreciación, y el remplazo. La naturaleza de las reservas donadas y los contratos de apoyo interno, determinan la frecuencia de los costos clasificados como cuotas fijas (mensualmente, trimestralmente, anualmente). La fuente primaria del pago por cuota fija para un bioterio, proviene de los apoyos financieros a los proyectos de la investigación o asignados al presupuesto, los cuales se basan en el pago de cuotas fijas diarias. Cuando se planea cobrar por cuota fija diaria, el cargo debe ser muy preciso porque la mayor parte del financiamiento otorgado lo es por periodos de tiempo fijos. Los cambios erráticos en las cuotas diarias hacen difícil para los usuarios el presupuestar eficientemente los costos del cuidado de los animales.

La mayoría de los factores directos e indirectos que afectan los costos de operación de un bioterio, varían de una institución a otra. Por lo tanto, cuando se establecen cargos y procedimientos de contabilidad aceptables, no se puede justificar la comparación de un programa de cargos y costos o su uso, para evaluar otro programa de cargos en otra institución.

#### **La Estructura Financiera**

El estado de una institución (que es, si es o no, una organización con ganancias) y sus políticas administrativas, influyen sobre los diferentes niveles de financiamiento proporcionado para sus bioterios. Las organizaciones del estado y federales, usualmente tienen más recursos internos de apoyo que las instituciones privadas. Por ejemplo, un bioterio de una institución del estado puede tener un costo de asignación de trabajo de \$250,000.00, el cual cubre los salarios y los gastos para el personal como el del director, gerente, supervisores, técnicos y otros. La institución, sin embargo, puede destinar \$130,000. hacia éstos salarios. De esta manera se requiere que las cuotas diarias recobren \$120,000. En la institución privada, por otro lado, el apoyo interno puede solo cubrir el salario del director, cuando mucho. La institución requiere la recuperación de todos los salarios restantes y gastos, a través de las cuotas fijas diarias. Los sueldos y otros costos pueden variar de una localización geográfica a otra. Esto puede influir sobre las formulaciones del presupuesto y pueden ser consideradas en el marco de clasificación por cuota fija diaria.

Los métodos de recuperación de costos impactan las cuotas diarias, lo cual influye sobre las asignaciones presupuestarias. Los servicios especiales, como el cuidado de la salud y vigilancia epidemiológica, los diagnósticos y la asistencia al investigador,

usualmente no se reflejan en las cuotas diarias pero son valoradas por separado.

#### **El Establecimiento de las Centros de Costos**

Durante la preparación del presupuesto de operaciones del bioterio, la proyección y asignación de los costos tangibles como salarios, cajas y otros equipos y suministros auxiliares, se hacen directamente. Existen sin embargo, dos variables cruciales que pueden tener un impacto significativo sobre las proyecciones del presupuesto: la solicitud de nuevos animales y la población animal existente durante el año fiscal. Ambos influyen directamente en los gastos, los ingresos derivados del bioterio y los cargos finales al investigador. Todos los usuarios potenciales de un bioterio centralizado deben consultar con el director de las instalaciones tan pronto como sea posible, acerca de sus necesidades de animales y las poblaciones estimadas que se alojarán en las instalaciones. El director del bioterio revisa todos los apoyos económicos y los compromisos relacionados con experimentos en animales. Esto puede ayudar a asegurar el espacio adecuado, las especies de animales, el número de animales que serán mantenidos y su disponibilidad. El director debe también percatarse de cualquier requerimiento especial o costo que debe ser incorporado o asignado a la solucitud del presupuesto.

**Los Gastos Directos:** Estos incluyen los salarios, las jaulas y los beneficios marginales relacionados para los empleados, el director, los supervisores, los técnicos, el personal de crianza, el personal de oficina y cualquier otro personal de apoyo. Los gastos directos deben incluir el costo del equipo no capitalizable, así designado para la institución y tratado como gasto de operación. También se incluyen los suministros, los alimentos, los contratos de servicio y cualquier otro gasto específicamente relacionado a la operación y el funcionamiento diario de las instalaciones.

**Los Gastos Indirectos:** Estos son los costos incurridos por la institución en el apoyo general de las operaciones del bioterio; por ejemplo, las operaciones de la planta física y el mantenimiento, los gastos generales y administrativos, la depreciación del equipo y las instalaciones, y el consumo de agua y electricidad.

#### **EL ANALISIS DE COSTOS Y EL PRESUPUESTO**

Después de la acumulación de la información para los costos, los ingresos y la proyección de éstos datos dentro de la estructura de cuotas fijas, una instalación de animales de laboratorio puede requerir un incremento sustantivo en las cuotas para cubrir sus costos. Sin embargo no es fácil para un bioterio, obtener pagos adicionales de los apoyos económicos de los investigadores y los presupuestos proyectados a largo plazo, ya que estas usualmente son fijos y se basan en las cuotas fijas actuales. En estos casos el

bioterio debe considerar reducir sus costos de operación.

Cuando la reducción de los costos llega a ser una necesidad, los tecnólogos del bioterio con responsabilidad de supervisión pueden ser los mayores aportadores para el proceso de ahorro en los costos. Todos los puntos anotados en la sección "Estadísticas Necesarias para el Analisis de Costo" de este capitulo son areas potenciales para el ahorro de costos. El interés del tecnólogo en cada una de estas areas (revisar abajo) es extremadamente útil en el establecimiento de un plan lógico para reducir costos.

**El Personal:** Los costos del personal tradicionalmente comprenden mas del 60% de todos los costos relacionados para el cuidado de los animales. Frecuentemente la reducción del personal es necesaria para reducir costos, pero generalmente los bioterios consideran y prueban otras medidas antes de iniciar el despido de empleados. La eliminación de las horas extras y los auxiliares temporales, frecuentemente reducen algunos gastos. La reducción de las necesidades de trabajo reestructurando la organización para incrementar eficiencia sin sacrificar el bienestar de los animales también reduce gastos. La reducción de algunas tareas no esenciales y los beneficios semejantes como el limpiado del equipo y la educación continua durante las horas de trabajo, pueden resultar de más ayuda para las funciones del cuidado crítico de los animales.

**El Espacio Físico:** La consolidación de las áreas en uso de un bioterio pueden reducir costos. El cierre de las instalaciones satélite y cuartos extras, generalmente reducen los costos tanto de trabajo como de la cantidad de suministros necesarios para el cuidado apropiado de los animales.

**Las Cajas:** Aunque la necesidad de cajas es usualmente estable, la reevaluación frecuentemente revela rutas para reducir los costos de las cajas. El reemplazo de las cajas de plástico desechables con cajas lavables y reusables puede ahorrar dinero en el corto plazo. El uso de cajas de acero inoxidable colgantes para roedores con un sistema de bebederos automático, puede reducir los grandes costos que se manifiestan, para el mantenimiento de los animales en cajas de plástico con la cama de contacto y las botellas de agua individuales.

**El Lavado de las Cajas:** Los sistemas de lavado de las cajas pueden mejorarse para ahorrar costos, a través de la evaluación del uso del equipo existente así como también los detergentes, los desinfectantes, los acidificantes y los neutralizantes. ¿Las cantidades de aditivos utilizados en el lavado de cajas y el equipo en cada ciclo de lavado son las adecuadas para el tipo específico de cajas que se están lavando?, o ¿ Se usa la misma cantidad de aditivos y equipo para todos los ciclos de lavado?. ¿Son los

programas de lavado y el limpiado de cajas óptimos para reducir los costos de trabajo?, o ¿se establecieron estos sin mayor conocimiento del ahorro de costos?. ¿Una caja normalmente limpiada los días Lunes y Jueves, puede dar un alojamiento aceptable si es limpiada tres veces cada dos semanas?.

Los Días de Alojamiento de los Animales: Para reducir los costos del bioterio, se puede reevaluar el número mínimo de días que deben permanecer los animales para su uso en un proyecto de investigación específico y reducir al mínimo el tamaño de las colonias en conformidad con:

El Alimento.- La reevaluación de los precios de los proveedores puede ayudar a la reducción de los costos. Las fábricas generalmente producen una variedad de dietas adecuadas nutricionalmente y con diferentes precios. El personal técnico debe observar si el alimento que se proporciona *ad libitum*, en los experimentos a corto plazo es tirado ó desperdiciado por los investigadores. Es posible que no sea necesario llenar los comederos de éstos animales todos los días ó cada vez que un lote nuevo se recibe. Los costos de alimentación también pueden reducirse, ajustando la cantidad de alimento suministrado a el tamaño y el temperamento de los animales que se reciben en cada lote.

La Cama.- La evaluación técnica de la cantidad y la calidad de la cama de contacto necesaria es esencial cuando se piensa reducir los costos. Algunos tipos de cama presentan variaciones en el precio con respecto de otros hasta en un 100 %.

La Basura.- El manejo de los desperdicios puede realizarse por diferentes sistemas dependiendo de su volumen, pudiendo involucrar una variedad de disposiciones legales y tecnológicas. Cada uno de los métodos de manejo de desperdicios debe evaluarse a la luz de las necesidades específicas del bioterio.

Las Pruebas de Laboratorio.- El número y el tipo de las pruebas de laboratorio desarrolladas pueden reducirse durante los tiempos de crisis fiscal. La evaluación de los animales centinelas, puede ser remplazada por la evaluación de los animales usados en investigaciones una vez que han terminado los experimentos. La realización de pruebas en laboratorios de la misma institución puede ser menos costosa que si se remiten a laboratorios externos.

Los Programas y los Servicios Especiales.- La revisión del número de servicios y las pruebas de laboratorio solicitadas con cargo al bioterio, pueden ayudar a encontrar un sistema de cobro más equitativo, que pueda reducir costos. Algunos programas como la realización de censos, revisión de cuartos y el suministro de

servicios técnicos a los investigadores, pueden reducirse ó eliminarse.

Es obvio por lo antes mencionado que en las instalaciones de un bioterio, pueden reducirse los costos de operación por numerosos métodos. Es igualmente obvio, que la gente mejor calificada para evaluar el impacto de éste tipo de cambios en los procedimientos de operación estandar, son los técnicos entrenados para desarrollar estas tareas. La reducción de costos requiere la comunicación abierta y continua entre el personal y el director comprometiendose a no sacrificar el bienestar del animal en nombre de la economía.



## CAPITULO TRES

### REGULACIONES Y SEGURIDAD

Existen muchas leyes así como reglamentos que tienen un efecto significativo no solo en como es dirigida la unidad o el bioterio, sino también, como estos aseguran que se prevenga la presencia de personas u organismos no deseados como grupos de vandalismo, así como también la prevención de catástrofes, ya sea en incendios o terremotos. La mayor parte de la información relacionada con estas legislaciones que usted debe conocer ya sea como técnico ó como tecnólogo aparecen en la sección I de éste manual. Sin embargo algunos lineamientos que son importantes para el nivel de tecnólogo, aparecen en esta sección. Estos lineamientos tienen un impacto directo sobre las medidas de seguridad, vigilancia de los animales de laboratorio y del personal a cargo de estos animales. Por lo que es importante que usted los conozca perfectamente.

#### ASPECTOS LEGISLATIVOS Y DE REGULACION

EL personal que supervisa el adecuado manejo de los animales y el equipo de investigación, generalmente también es el representante de la institución ante algunos visitantes (los supervisores ocasionalmente son requeridos por el director del bioterio para que hagan alguna presentación ante diferentes visitantes). Esta actividad requiere de un profundo conocimiento de los lineamientos federales, estatales, así como de las regulaciones locales y de los lineamientos que afectan la operación del bioterio. En los Estados Unidos existen reglamentos federales que derivan directamente del Acta para el Bienestar Animal, así como también de la política del cuidado humanitario para el uso de los animales de laboratorio, publicado por estos servicios Nacionales de Salud (PHS), y también por la agencia de los Reglamentos de la Administración de Alimentos y Drogas (FDA) que edita las prácticas para el buen manejo de los animales de laboratorio (GLP).

En la sección I de este manual de entrenamiento se proporciona información básica sobre las políticas del servicio de salud pública de los Estados Unidos, así como de los reglamentos para el buen uso de los animales de laboratorio, editado por la agencia de drogas y alimentos de los Estados Unidos. Además, la sección I resume las generalidades relacionadas con el acta o la ley para el Bienestar Animal. Para mayores detalles, se proporcionan a continuación las revisiones específicas de 1985 de las Acciones del Bienestar Animal que tienen impacto en las instalaciones para Animales de Laboratorio. La información sobre leyes ó legislaciones estatales y locales, no pueden proporcionarse en este manual porque estas varían considerablemente de estado a estado y deberán ser revisadas por usted en el momento oportuno.

Se considera que un buen tecnólogo o técnico de animales de laboratorio no solo debe llegar a estar completamente familiarizado con los reglamentos locales, sino también se mantendrá al día de todas las revisiones y cambios que puedan sufrir las leyes, algunas de las cuales pueden afectar la ley para el Bienestar Animal.

Una manera adecuada para ir al día con estos reglamentos siempre cambiantes, es mantener un expediente de referencia de materiales específicos y actualizar periódicamente el archivo. En este expediente debe estar incluida una copia de la Guía para el Cuidado y Buen Uso de los Animales de Laboratorio publicado por los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos (NIH). Esta Guía constituye el documento más adecuado para señalar lo que se requiere, para mantener en forma ideal a los animales de laboratorio. Se habla de los Veterinarios, del control ambiental, requerimientos de las instalaciones, equipo, los mínimos reglamentos de sanidad y desinfección incluyendo todo lo demás de otros aspectos de la operación del bioterio, que influyen en el cuidado humanitario y el buen uso de los animales de laboratorio.

El cumplimiento de la ley para el Bienestar Animal de los Estados Unidos, es vigilado que se cumpla por el servicio de inspección de animales y edificios (APHIS), que es una división del departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA), esta ley ha sido modificada varias veces. La última corrección fue aprobada por el Congreso en 1985, por lo que no todos los lineamientos publicados de este departamento aparecen en este manual.

La ley para el Bienestar de los Animales de Laboratorio de los Estados Unidos, especifica que los bioterios deben implementar programas para la prevención de enfermedades, control de parásitos y métodos de eutanasia. Estos programas deben ser desarrollados bajo la supervisión de un veterinario. La persona encargada del cuidado de los animales de laboratorio que trabaje bajo la dirección del veterinario, debe observar todos los días a los animales de sangre caliente. Reportar animales enfermos, estresados, lesionados o que es importante que reciban el cuidado del médico veterinario o bien, que tome la decisión de su sacrificio eutanásico, a menos que la investigación requiera de alguna de las condiciones que se han mencionado anteriormente se debe consultar con anticipación al investigador. El programa del cuidado veterinario también debe regular el uso apropiado de las drogas como los anestésicos, analgésicos y tranquilizantes en los animales.

Las correcciones de 1985 a la ley para el Bienestar Animal especifican, que los perros deben ser ejercitados de una manera determinada bajo la conducción de un médico veterinario. Estas correcciones también indican que los primates deben mantenerse en un ambiente físico adecuado para el bienestar psicológico de estos animales.

Para cumplir con estas correcciones, cada bioterio debe

proporcionar entrenamiento a los investigadores, técnicos a cargo de los animales y otros empleados relacionados con el cuidado y uso de los animales de laboratorio. El programa también debe incluir la enseñanza de métodos alternativos al uso de los animales de laboratorio ó de su reducción en uso, así como también los métodos que reducen ó eliminan el dolor o las molestias en los animales que son sujetos de investigación.

El programa debe proporcionar información al trabajador, sobre los servicios de investigación ó datos bibliográficos que se encuentran en la biblioteca Nacional de Agricultura de los Estados Unidos, en la cual existen reportes específicos sobre el cuidado y el tratamiento de los animales de laboratorio.

Las correcciones de 1985 también establecen que ningún animal puede ser usado más de una vez después de algún proceso experimental mayor, en el cual se le permitió recuperarse, excepto en los casos de necesidad científica o en otras circunstancias especiales, que son vigiladas por la Secretaría de Agricultura de los Estados Unidos. Algunas excepciones pueden ser realizadas solo cuando se especifican en el protocolo de investigación y esta excepción debe ser explicada con detalle en un reporte final al Comité Institucional para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio.

Bajo las condiciones de la Ley para el Bienestar Animal, la USDA, a través del APHIS, requiere revisar los bioterios ó instituciones donde se utilizan animales de laboratorio, cuando menos una vez al año. El director del bioterio o la persona a cargo, usualmente participan en los procesos de inspección y en el desarrollo de los informes de cualquier deficiencia notada durante las inspecciones. El bioterio debe ser capaz de demostrar, que está cumpliendo con los reglamentos establecidos por la ley para el bienestar animal de los Estados Unidos, durante el proceso de inspección y en todos los informes escritos que ésta genere. Estos reportes también deben mostrar, que los estándares que se siguen para el cuidado, tratamiento y uso de los animales en experimentación, están de acuerdo con los estándares gubernamentales y que son atendidos por profesionales en el área. El conocimiento de estas leyes así como sus efectos, son una de las responsabilidades del técnico ó tecnólogo en animales de laboratorio, por lo que esta persona debe de conocer cuales son las leyes, como se aplican en el bioterio donde trabaja y cuales son los programas que deben implementarse para asegurar que estas leyes se cumplan.

#### **MEDIDAS DE PROTECCION Y SEGURIDAD EN EL BIOTERIO**

Las medidas de seguridad de un bioterio, involucran procesos más allá que las de colocar las puertas con cerraduras. La seguridad debe ser tanto física como psicológica, la institución tiene como

obligación, dar medidas de seguridad efectiva, evaluar el riesgo, seleccionar e implementar el sistema de seguridad físico necesario. La posibilidad de una amenaza a las medidas de seguridad del bioterio siempre está presente. Estas amenazas incluyen los fenómenos naturales, errores humanos, fallas mecánicas y actos de vandalismo o terrorismo, excepto para los hechos de vandalismo, poco puede hacerse para prevenir la ruptura de medidas de seguridad causadas por los eventos fortuitos. Los actos de vandalismo planeados por los grupos de proteccionistas de los derechos de los animales, obviamente no son eventos fortuitos. Cualquier medida tomada para impedir o prevenir la presencia de estos actos de proteccionistas también impiden los actos esporádicos del vandalismo.

La prevención de la ruptura de las medidas de seguridad es un proceso complejo. Requiere del desarrollo de sistemas de seguridad funcionales, los cuales generalmente son proporcionados por personal profesional en el área, como patrullas de seguridad, colocación de mecanismos preventivos, así como el mismo diseño del bioterio. El desarrollo de un buen plan de seguridad, también requiere de la completa cooperación de todas las personas que trabajan en el bioterio. La opinión de los investigadores, los técnicos de investigación, las secretarías y el personal del laboratorio deben estar incluidos en el proceso de la decisión de cual es el mejor sistema de seguridad para cada institución en particular. El personal que no está de acuerdo en apoyar todos los aspectos del sistema de seguridad, está pasivamente saboteando el sistema por completo con su indiferencia.

#### **Valoración de los Riesgos**

Todos los bioterios están en continuo riesgo porque hay siempre individuos que objetan la investigación realizada con animales. De cualquier modo, ciertos tipos de investigaciones favorecen más este riesgo. Algunos ejemplos son:

1.- El uso de perros que provienen del Centro Antirrábico Local (esta práctica es observada por los activistas de los derechos animales como un acto agresivo, ya que estos ven a los animales no como un plaga, sino como mascotas que han sido perdidas. De cualquier modo, generalmente estos animales no son deseados por nadie).

2.- El uso de los primates no humanos.

3.- Abusos en el uso de animales de investigación.

4.- Investigación sobre el dolor.

5.- Investigaciones sobre la conducta ó efectos psicológicos.

Entre más investigaciones de este tipo se realicen en el

bioterio, mayor será la posibilidad de ataque por estos grupos defensores de los derechos animales.

El bioterio debe desarrollar una valoración de los riesgos y determinar su vulnerabilidad a posibles ataques de la planta ó instalaciones, tanto externos como internos, así como por los medios de comunicación.

Es conveniente que el director de la unidad haga visitas al bioterio con individuos que no pertenecen a la institución, pero que conocen los requerimientos y regulaciones, así como guías establecidas para el mantenimiento de un bioterio, con el propósito de denotar las deficiencias y que éstas sean corregidas tan pronto como sea posible, para evitar cualquier percepción pública ó mala interpretación de que los animales en el bioterio se tratan en forma inadecuada.

#### **Selección de un sistema de Seguridad**

La decisión final sobre cual es el sistema de seguridad adecuado para un bioterio, depende no solo de las necesidades en los términos del nivel de riesgo de ese bioterio, sino también del nivel financiero. Un bioterio en el cual un gran número de serpientes están alojadas, tiene pocas posibilidades de ser un blanco por algún grupo de defensores de los derechos animales, porque hay pocos sentimientos públicos a favor de las serpientes. Por otro lado, un bioterio involucrado en la investigación sobre el dolor, utilizando perros ó gatos que provienen de los Centros Antirrábicos, puede requerir de un sistema de seguridad sofisticado, inclusive con dispositivos de tarjetas de acceso en cada puerta, cámaras de televisión, circuitos infrarojos, alarmas de entrada forzada, cerraduras de combinación interior así como patrullas por el personal de seguridad. Estos sistemas son costosos, pero si se previene la destrucción de varios proyectos de investigación que generalmente son de largo plazo, estos mecanismos pueden salvar más de lo que ellos costaron.

#### **Estrategias para la Disminución de los Riesgos**

La disminución de un peligro potencial menor en sus estados iniciales, puede ayudar a que el bioterio o centro de investigación sea un lugar seguro. Hay un gran número de métodos por los cuales un bioterio puede modificar los sentimientos públicos hacia un problema en particular. Entre ellos se encuentra, el uso de las relaciones públicas positivas hacia noticias periodísticas.

Relación de Proyecto: El personal del bioterio debe desarrollar una lista de sus proyectos de investigación actuales, con los detalles de las metas de la investigación escritas en un lenguaje legal. La prensa o medios de comunicación pueden ser alimentados

con esta información, cada vez que algunas de las investigaciones logren avances significativos, que repercutan en el bienestar de la salud humana o animal.

**Educación al Público:** No es posible esperar que el público apoye algo que no puede entender. Por lo que se debe proporcionar información a la comunidad acerca de lo que realizan los investigadores y lo que beneficia al público, esto se puede realizar a través de los medios de comunicación, para que ellos estén dispuestos a apoyar el uso de animales en la investigación. Los bioterios pueden desarrollar relaciones de trabajo con el personal de los medios de comunicación, invitarlos a visitar el bioterio y que observen las condiciones en que se realizan los experimentos. Además se les proporcionaría una información sustancial acerca de los avances en investigaciones, dándoles cierta exclusividad que les mantendría interesados en los progresos. Si el público en general observa el valor de la investigación, es difícil que los grupos activistas o protectores de los derechos animales puedan ganar miembros u obtener apoyo continuo. Muchos miembros del personal de apoyo de los animales del bioterio, técnicos o investigadores están relacionados con escuelas de nivel primaria, secundaria y preparatoria, por lo que se pueden organizar visitas al bioterio, en las cuales se les explique lo que se realiza dentro de él. El contacto con estas personas es muy valioso porque la literatura o folletos presentados a los estudiantes, generalmente son llevados a sus casas y leídos por sus padres u otros familiares. Otros niveles de acercamiento pueden lograrse con profesionistas que solicitan visitar el bioterio, como Clubs ó grupos de interés público, que están interesados en conocer los usos de los animales de laboratorio. Todos éstos tipos de contactos, así como la información que se les proporcione debe ser cuidadosamente vigilada a través del director del bioterio.

**Educación para los empleados:** Los empleados a cargo del cuidado de los animales de laboratorio, son las personas más adecuadas para identificar cambios extraños o reconocer que algo está mal en el bioterio. Ellos pueden reconocer a algún técnico o a alguna persona que no esté identificada con el uso de los animales, pero que puede estar más relacionada con los derechos de los animales. Por lo que es extremadamente importante educar al personal del bioterio, en la vigilancia y el reporte de cualquier actividad o los sucesos inusuales que ocurran en este.

**Selección de empleados:** Con el interés de la seguridad, cualquier persona que es seriamente considerada para contratarse como trabajador dentro del bioterio, debe ser minuciosamente examinada antes de su contratación. Los entrevistadores deben realizar preguntas específicas que se relacionen con el uso de los animales en la investigación y buscar cualquier vacilación ó

contradicción en las respuestas.

En ocasiones hay individuos que tienen algunas dudas acerca del trabajo con los animales de laboratorio, sin embargo con el tiempo pueden ser excelentes técnicos en el bioterio. De cualquier modo, siempre hay que estar alerta de aquellos candidatos que creen que los animales durante la investigación, son tratados inadecuadamente y que sienten que ellos pueden mejorar la situación, seleccionar a esta persona puede ser riesgoso. Todas sus referencias deben ser verificadas. Si es posible o legal dentro de su localidad, solicitar copia de antecedentes penales.

#### **Contacto con Asesores Legales**

Uno de los aliados más valiosos de la comunidad científica puede ser el contar con un asesor legislativo. Los directores del bioterio deben contactar asesores o agencias que tienen esta actividad en el área en donde se localiza el bioterio. Se debe discutir con ellos las posibilidades de infracción a la ley en que pudiera caer el bioterio. Los directores deben preguntar a estos asesores, que recomendaciones hacen sobre las medidas de seguridad o que les informen acerca de posibles acciones legales que pudieran realizar grupos de protección a los derechos animales activos en esa localidad.

## **BASES BIOLÓGICAS PARA LA COMPRENSIÓN DE LA CIENCIA DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO**

La información que se presenta en esta unidad, es una introducción para el técnico en los mecanismos celulares que afectan las respuestas de los animales de laboratorio en los procesos experimentales. Se enfatizan los mecanismos de transporte y la estructura celular, se muestra cómo las drogas y otras sustancias químicas entran a las células. También se presenta una descripción básica de los tipos de tejidos, para ayudar al técnico a comprender la histología.

En esta unidad se incluye un compendio de características anatómicas comunes de los animales de laboratorio, en un esfuerzo por mostrar la gran diversidad que existe en el reino animal y para familiarizar al técnico con las características anatómicas que son relevantes a los modelos de investigación animal que se utilizan.

El conocimiento de estas características anatómicas, también proporcionará al técnico información que le será de ayuda cuando desempeñe sus actividades rutinarias en el bioterio.

### **CAPITULO CUATRO**

#### **ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE LAS CELULAS Y LOS TEJIDOS**

Las células son la unidad fundamental de organización de la materia viva. Las células pueden replicarse autonomamente y existen en forma de vida independiente. Los tejidos por otra parte representan un sistema de organización más complejo. Ellos están compuestos por grupos de células usualmente de un sólo tipo, mantenidas entre sí por material intercelular.

##### **LAS CELULAS.**

Las células son de dos tipos: Procarióticas y Eucarióticas, las bacterias y las algas azul verde son células procarióticas, todos los demás organismos ya sea que estén constituidos por una ó más células son del tipo de células eucarióticas. La principal diferencia entre las células procarióticas y las células eucarióticas, es que las procarióticas carecen de una membrana nuclear. Las células eucarióticas tienen una membrana que limita su entorno celular y presentan un núcleo que está separado del resto del citoplasma también por una membrana. Las células eucarióticas también tienen estructuras que realizan funciones particulares como los organelos, los cuales también están separados del citoplasma por membranas. A continuación se realizará una descripción más completa de las células eucarióticas.



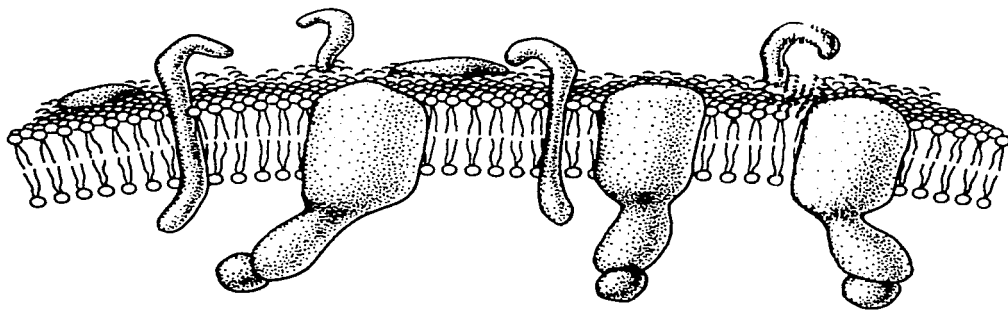
### La Membrana Plasmática

La membrana plasmática está compuesta en su mayor parte por proteínas y lípidos, los cuales están organizados de tal manera que impiden el paso de soluciones ó sustancias hidrosolubles, como pueden ser los iones de Calcio ( $Ca^{++}$ ) ó el Sodio ( $Na^+$ ) y otras sustancias como la glucosa y la urea. Las sustancias que pueden entrar al interior de la célula, únicamente lo pueden hacer a través de un proceso especializado, ya sea denominado difusión facilitada ó transporte activo. Por otra parte las sustancias liposolubles como el Oxígeno ( $O_2$ ), puede penetrar la membrana fácilmente, debido al gradiente de concentración.

Durante mucho tiempo, la estructura de la membrana plasmática fué cuestión de debate, sin embargo ahora la mayor parte de los científicos concuerda en que está formada por una bicapa de lípidos. Las dos capas de lípidos que conforman la bicapa, están orientadas con sus lados hidrofóbicos (la porción que repele al agua) hacia el centro de la membrana y la porción hidrofílica (la porción que tiene atracción por el agua), se encuentra localizada hacia la cara interna y externa de las superficies de la membrana) (Fig. 4.1).

Unidas a la membrana plasmática y sobresaliendo a través de ella, existen dos tipos de proteínas en la membrana: proteínas periféricas y proteínas integrales. Las proteínas periféricas se encuentran principalmente en la superficie interna de la membrana (es decir hacia el interior de la célula), donde ellas actúan como enzimas que catalizan reacciones químicas de la célula. Las proteínas integrales protuyen a través de la superficie de la membrana extracelular, donde interaccionan con las sustancias que se presentan en la superficie externa de la célula. Las proteínas integrales proporcionan un camino estructurado para el paso del agua y iones, pero también son selectivas facilitando la difusión únicamente de ciertas sustancias. Debido a que la membrana plasmática es similar a un fluido, sus elementos fluyen de un área a otra de la membrana. Muchos tipos de proteínas flotan y se difunden a través de una bicapa de lípidos hacia todas las áreas de la membrana.

Los carbohidratos también forman parte en menor medida de la membrana plasmática, se les encuentra casi exclusivamente sobre la superficie externa, adheridos a las proteínas integrales. Sirven como sitios de anclaje o punto de unión a las hormonas que estimulan varias actividades en la célula o como sitios de reconocimiento para la respuesta inmune. Debido a la composición química de la membrana plasmática, ciertas sustancias pueden entrar a la célula únicamente a través de la acción de transportar químicos. Esta misma composición también evita que sustancias intracelulares puedan salir al exterior de la célula.



**Figura 4.1.** Una bicapa de fosfolípidos clásica. Las porciones hidrofóbicas (repelentes al agua) de las moléculas de lípidos, se encuentran adyacentes una con otra y hacia el centro de la membrana. Las porciones hidrofílicas (porciones atraídas hacia el agua) de la molécula se encuentran hacia la porción interna y externa de la superficie de la membrana. Proyectándose a través de la membrana, en su mayoría hacia la cara interna de la célula, se encuentran proteínas periféricas las cuales son enzimas que catalizan reacciones químicas intercelulares. Atravesando la membrana y extendiéndose sobre la superficie externa se encuentran las proteínas integrales las cuales reaccionan contra sustancias extracelulares.

La entrada de otras sustancias a través de la bicapa de lípidos es de forma pasiva, esto es, una sustancia en particular gana acceso al interior de la célula difundiendo a través de la membrana de un área de mayor concentración a un área de menor concentración.

La sustancia más importante en el cuerpo es el agua. Esta es el mayor solvente de proteínas y electrolitos, un reactivo en la mayor parte de las reacciones bioquímicas (principalmente a través de mantener el pH), y es el principal medio por el cual se transporta el calor del organismo. Aproximadamente el 60% del peso corporal de los humanos es agua, y cerca del 60% del agua se encuentra en las células y es llamada líquido celular. El restante 40% es líquido extracelular, el cual se presenta como un fluido intersticial, sangre y los fluidos que llenan los espacios entre la mayor parte de las estructuras corporales.

Los líquidos intersticiales se encuentran entre las células y proporcionan el medio extracelular. El plasma que es la porción líquida de la sangre, proporciona el transporte para las células rojas y comunica con los líquidos intersticiales a través de los poros de las células que presentan los capilares. El mecanismo primario de comunicación entre los fluidos extracelulares es la difusión, pero esta comunicación involucra también varios procesos más.

#### **Transporte de Líquidos**

Las moléculas se mueven a través de la membrana por dos métodos: transporte activo y difusión pasiva. El proceso pasivo ocurre sin el gasto de energía por la célula. El proceso o transporte activo requiere de trabajo y consumo de energía para mover sustancias a través de un gradiente electroquímico.

**Difusión Pasiva:** La difusión pasiva a través de la membrana, es un proceso celular que requiere muy poco trabajo y no requiere gasto de energía. La difusión es un método de transporte pasivo, que permite el movimiento de moléculas y iones por energía cinética, la cual es energía producida por la coacción de moléculas al azar, los médicos llaman a esta energía calor. Por ejemplo, una sustancia soluble en agua (soluta), colocada en un vaso de agua se disuelve hasta que la concentración final del soluto es uniforme a través de toda la solución (el agua y la sustancia se hacen una sola). El rango de difusión del soluto en el solvente (agua, en este caso) es afectado por la concentración del soluto, el tamaño de la partícula, la temperatura y la distancia de las partículas del soluto que se deben difundir (esto es, el gradiente de concentración).

La Osmosis es una forma de difusión que ocurre en la presencia de una membrana semipermeable. Esta es definida como el movimiento de moléculas de un solvente a través de un área de alta concentración hacia un área de baja concentración.

La entrada de otras sustancias a través de la bicapa de lípidos es de forma pasiva, esto es, una sustancia en particular gana acceso al interior de la célula difundiendo a través de la membrana de un área de mayor concentración a un área de menor concentración.

La sustancia más importante en el cuerpo es el agua. Esta es el mayor solvente de proteínas y electrolitos, un reactivo en la mayor parte de las reacciones bioquímicas (principalmente a través de mantener el pH), y es el principal medio por el cual se transporta el calor del organismo. Aproximadamente el 60% del peso corporal de los humanos es agua, y cerca del 60% del agua se encuentra en las células y es llamada líquido celular. El restante 40% es líquido extracelular, el cual se presenta como un fluido intersticial, sangre y los fluidos que llenan los espacios entre la mayor parte de las estructuras corporales.

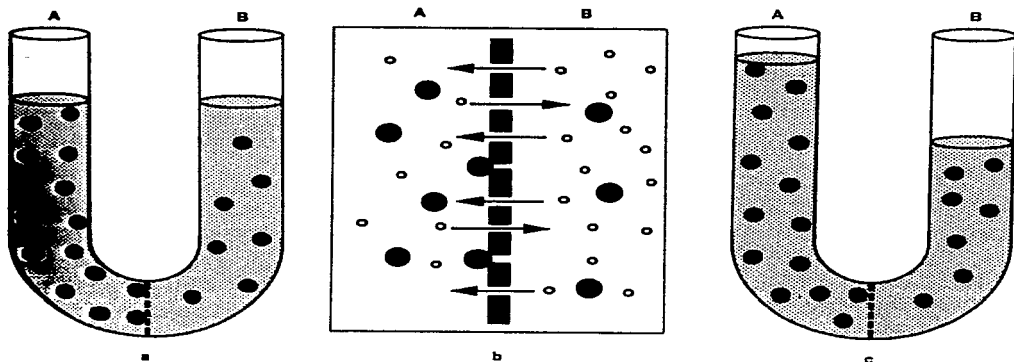
Los líquidos intersticiales se encuentran entre las células y proporcionan el medio extracelular. El plasma que es la porción líquida de la sangre, proporciona el transporte para las células rojas y comunica con los líquidos intersticiales a través de los poros de las células que presentan los capilares. El mecanismo primario de comunicación entre los fluidos extracelulares es la difusión, pero esta comunicación involucra también varios procesos más.

#### **Transporte de Líquidos**

Las moléculas se mueven a través de la membrana por dos métodos: transporte activo y difusión pasiva. El proceso pasivo ocurre sin el gasto de energía por la célula. El proceso o transporte activo requiere de trabajo y consumo de energía para mover sustancias a través de un gradiente electroquímico.

**Difusión Pasiva:** La difusión pasiva a través de la membrana, es un proceso celular que requiere muy poco trabajo y no requiere gasto de energía. La difusión es un método de transporte pasivo, que permite el movimiento de moléculas e iones por energía cinética, la cual es energía producida por la coacción de moléculas al azar, los médicos llaman a esta energía calor. Por ejemplo, una sustancia soluble en agua (soluta), colocada en un vaso de agua se disuelve hasta que la concentración final del soluto es uniforme a través de toda la solución (el agua y la sustancia se hacen una sola). El rango de difusión del soluto en el solvente (agua, en este caso) es afectado por la concentración del soluto, el tamaño de la partícula, la temperatura y la distancia de las partículas del soluto que se deben difundir (esto es, el gradiente de concentración).

La Osmosis es una forma de difusión que ocurre en la presencia de una membrana semipermeable. Esta es definida como el movimiento de moléculas de un solvente a través de un área de alta concentración hacia un área de baja concentración.

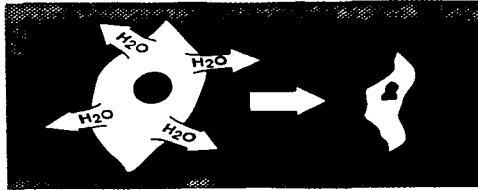


**Figura 4.2** El movimiento de las moléculas de agua a través de una membrana semipermeable, balancea la concentración de dos soluciones de glucosa (A y B) por reducción del número de moléculas de agua disponibles en la solución menos concentrada. Este fenómeno puede ser observado al percibirse del decremento del volumen de la solución B y del correspondiente incremento en el volumen de la solución A.

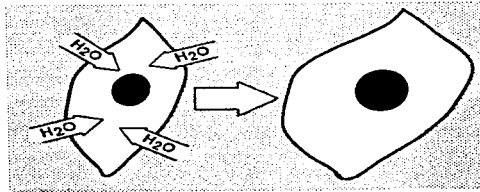
Para ilustrar este concepto, se asume que dos soluciones diferentes de glucosa están separadas por una membrana que es permeable al agua, pero no a las moléculas de glucosa. La concentración de una solución es 10%, la concentración de la otra solución es 20%, y el volumen de las dos soluciones al inicio es exactamente igual. La solución de mayor concentración se dice que ejerce una presión osmótica a través de la membrana. El agua la cual difunde libremente a través de la membrana en ambas direcciones, muestra un movimiento neto hacia el gradiente de solución de 20% hasta que la concentración de glucosa en las dos soluciones es cercanamente igual. A este punto en el solvente (agua), las moléculas continúan difundiéndose en ambas direcciones pero en cantidades iguales. La concentración de los dos fluidos no es exactamente igual, dado que la solución que fué inicialmente más concentrada ahora contiene más agua que al inicio, que la solución inicialmente diluida. Entonces un diferencial de presión hidrostática existe ahora a través de la membrana, la cual contrareacciona hacia el diferencial de presión osmótica remanente (Fig. 4.2)

La tonicidad es un concepto que esta relacionado con la ósmosis. Se dice que un fluido es isotónico, o iso-osmótico, cuando tiene la misma concentración del soluto que otra solución de la misma sustancia. La tonicidad frecuentemente se usa para comparar una solución intravenosa en el torrente sanguíneo. Una solución es hipotónica, si la concentración del soluto es más baja que la de otra de la misma sustancia e hipertónica si es mayor.

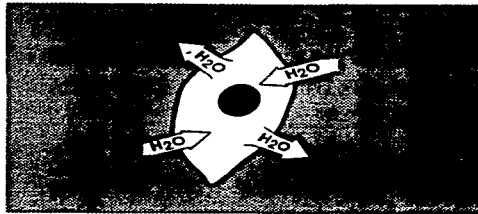
El agregar a una solución isotónica (0.9% de solución salina o 5.0% de glucosa), no produce cambios en la osmolaridad (concentración osmótica) de un liquido extracelular en los mamíferos, pero incrementa su volumen. Sin embargo el agregar una solución hipertónica, produce un incremento en la osmolaridad y en la ósmosis del agua al exterior de las células y en el compartimiento extracelular, por lo tanto causa que las células se arruguen. El agregar una solución hipotónica ocasiona un decremento en la osmolaridad del fluido extracelular y un movimiento neto de agua hacia el interior de las células, entonces ocasiona que las células se hinchen. (Fig.4.3).



Medio hiperosmótico.



Medio hipoosmótico.



Medio isoosmótico.

**Figura 4.3** Relaciones osmóticas (arriba). Una célula rodeada por un medio hiperosmótico pierde agua, entonces la célula se arruga. (centro) Una célula rodeada por un medio hipoosmótico gana agua, entonces la célula se hincha y puede lisarse en condiciones extremas. (abajo) El agua se mueve hacia adentro y hacia afuera de la célula en cantidades iguales, cuando la célula está rodeada por un medio isoosmótico (isotónico) la célula ni se arruga ni se hincha.

Difusión mediada por transporte o difusión facilitada; este es el mecanismo por el cual moléculas de gran tamaño, como los azúcares y los aminoácidos son capaces de moverse a través de la membrana plasmática. Estas moléculas se combinan químicamente con otras sustancias para hacerse momentáneamente solubles, lo cual les permite pasar a través de la membrana. Una vez dentro de la célula, el ambiente diferencial impide que se mantenga esta estabilidad molecular, por lo que la molécula se separa. La sustancia que actúa como acarreador se separa y se regresa a través de la membrana, donde se recombinará con otras moléculas para transportar nuevamente a través de la membrana. La difusión facilitada no requiere el gasto de energía por la célula y por lo tanto es también un medio de transporte pasivo.

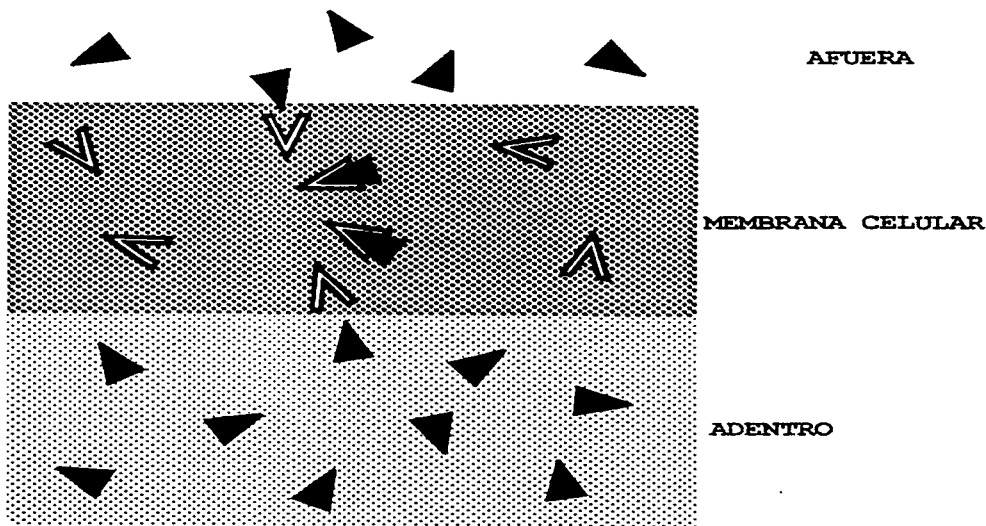
Transporte Activo: transporte activo es el movimiento de sustancias en contra de un gradiente de concentración o un gradiente electroquímico. Este requiere el gasto de energía por la célula. Tabla 4.1 muestra la concentración relativa de varias sustancias en los líquidos intracelular y extracelular, mostrando que existen muchos diferenciales en radicales o gradientes a través de la membrana; únicamente a través de procesos activos se pueden mantener estos gradientes. El transporte activo consume aproximadamente el 20% del total de la energía que gasta un organismo.

**Tabla 4.1** Gradientes de concentración normal aproximados de varias sustancias corporales a través de la membrana plasmática (entre los fluidos intra y extracelulares).

Sustancia	Concentración (mEq/l) en un líquido intra-celular.	Concentración (mEq/l) en un líquido extra-celular.
Sodio	10	137
Potasio	141	5
Calcio	variable	5
Magnesio	62	3
Cloro	4	103
Bicarbonato	10	28
Fosforo	75	4
Sulfato	2	1
Glucosa	variable	alto
Aminoácidos	variable	alto
Lípidos	variable	variable
Oxígeno	alto	alto
Bioxido de carbono	alto	moderadamente alto



Muchos mecanismos de transporte activo involucran o utilizan sustancias acarreadoras pero de una manera diferente a la difusión facilitada, dado de que la energía es gastada en el sistema. Enzimas que catalizan reacciones, utilizan ATP (adenosin trifosfato) como una fuente de energía, con ello se cambia la solubilidad de la sustancia permitiéndole ser transportada a través de la membrana, ya que normalmente no podría penetrar. Una vez penetrando a través de la membrana, las sustancias transportadas son abandonadas por las sustancias acarreadoras sobre el lado de la membrana de alta concentración. Sin las sustancias acarreadoras las sustancias transportadas no pueden pasar de regreso a través de la membrana (Fig. 4.4). La mayor parte de las sustancias acarreadoras son proteínas; por ejemplo, las proteínas integrales mencionadas antes en este capítulo.



**Figura 4.4** Transporte activo a través de la membrana celular. En la otra cara de la membrana de la célula, moléculas de la sustancia a ser transportada a través de la membrana de la célula (representada por los triángulos negros) se combinan con las moléculas transportadoras lipidos-solubles (representadas con los casquillos triangulares). Las últimas moléculas combinadas se mueven a través de la membrana desde la región de alta concentración cerca de la superficie exterior de la membrana a la región de menor concentración cerca de la región interna de la membrana. Aquí, la sustancia transportada es liberada al interior de la célula por las moléculas transportadoras. Las moléculas libres transportadoras de lipidos-solubles, se mueven a través de la membrana hacia la superficie exterior, donde están nuevamente disponibles para sumarse al transporte de otras moléculas a través de la membrana.

La bomba de sodio - potasio, es un sistema de transporte activo importante que se presenta en todas las células. Esta se mantiene concentrando un extremadamente alto diferencial de concentración de sodio y potasio a través de la membrana. Como se indica en la tabla 4.1, la concentración normal de sodio y potasio hacia el exterior de la célula es de 137 m Eq/l y 5 m Eq/l respectivamente. Dentro de la célula la concentración normal de sodio y potasio son aproximadamente 10 m Eq/l y 141 m Eq/l respectivamente, entonces existe un diferencial de 127 m Eq/l de sodio y 136 m Eq/l de potasio a través de la membrana plasmática normalmente. Estos tremendos gradientes de concentración son mantenidos con el gasto de energía celular.

El mantenimiento de los gradientes de concentración de sodio y potasio, son vitales para el funcionamiento apropiado de nervios y fibrocélulas musculares. En estos tejidos, la membrana plasmática debe despolarizarse rápidamente ( perder su carga eléctrica) y repolarizarse (obtener su carga eléctrica) para permitir la transmisión del impulso.

Las células especializadas, como las que se encuentran en las glándulas de secreción y las células no especializadas usan otros mecanismos de transporte activo para mantener concentraciones apropiadas de iones en el ambiente intracelular. Si el gasto de energía se detiene, como ocurre cuando el organismo muere, entonces los procesos pasivos continúan, pero los procesos activos cesan, resultando consecuentemente en una deterioro celular.

Grandes moléculas, en algunos casos células enteras pueden entrar a una célula por el proceso denominado endocitosis, el cual ocurre ya sea como pinocitosis o fagocitosis. En la pinocitosis una parte de la membrana plasmática se une con pequeñas proteínas extracelulares o fluidos y entonces se unen éstos hacia el citoplasma, donde son adheridos a vesículas intracelulares. En la fagocitosis la membrana plasmática se une a sustancias sumamente grandes, como una bacteria o algunos tipos celulares y entonces las células engolfan estas sustancias, formando una vesícula intracelular. El reverso de la endocitosis o expulsión de sustancias por la célula, se denomina exocitosis.

### **El Nucleo**

El núcleo aparece en la mayor parte de las células eucarióticas como una estructura redonda, cubierta por una membrana e incluida en el citoplasma. El núcleo tiene un papel crucial en la reproducción y en la dirección de las actividades metabólicas de la célula, especialmente en la síntesis proteica. Esas actividades metabólicas resultan de la acción e interacción de dos tipos de ácidos nucleicos, el ácido desoxiribonucleico (DNA) y el ácido ribonucleico (RNA). Tanto el DNA y el RNA se encuentran en el núcleo pero y únicamente el RNA se encuentra en el citoplasma.

El DNA usualmente se encuentra como una doble cadena y forma largos polímeros o unidades estructurales denominados nucleótidos.

Un nucleótido consiste en que una molécula de azúcar (desoxirribonucleasa), combinado con un grupo fosfato y una base nitrogenada ya sea adenina, guanina, citosina, o timina. El RNA tiene una estructura similar, excepto que el azúcar es la ribosa y las moléculas a las que se une esta ribosa es el uracilo, que es sustituido por la timina, la molécula generalmente forma una sola cadena. Largas cadenas de DNA o RNA pueden producirse por la unión de azúcares de un nucleótido con el grupo fosfato del siguiente.

Las moléculas de DNA son los elementos bases que forman los genes, las unidades que determinan las características hereditarias. La diferencia entre un gen y otro estriba en la secuencia de los nucleótidos.

Cuando se inactiva, lo cual ocurre la mayor parte del tiempo, el DNA existe como una doble hélice helicoidal, similar a lo que ocurre con una escalera de caracol en donde las bases nitrogenadas o los complementos de las bases nitrogenadas formarían los peldaños de la escalera y mantienen unidas las dos cadenas, estas cadenas a su vez están unidas por puentes de hidrógeno. La adenina es complementaria y siempre se une a la timina y la guanina es complementaria y siempre se une con la citosina. La naturaleza del proceso de replicación (división celular), asegura que el código genético es idéntico en las células replicadas o células hijas.

La replicación se inicia con la separación de la doble cadena de DNA en dos cadenas sencillas. Cada cadena sirve como un molde para la nueva síntesis de una pareja de DNA a través de una serie de reacciones enzimáticas. Este proceso resulta en la formación de dos dobles cadenas idénticas a la molécula original. Durante la división celular la cromatina, la cual es DNA enrollado, se condensa hasta formar los cromosomas los cuales contienen a los genes.

Además de la replicación por sí mismo del DNA, también se sintetiza RNA de una manera muy similar pero utilizándose uracilo como complemento con la adenina (durante la síntesis). El RNA producido por este proceso se denomina RNA mensajero (RNAm). Usualmente este RNA es una molécula sencilla que no tiene una pareja. El RNA mensajero deja el núcleo y se dirige hacia los ribosomas en el citoplasma, para realizar la síntesis protéica de una manera predeterminada por la secuencia de nucleótidos contenidos en la molécula de RNA.

Puede existir uno o más nucléolos en el núcleo. Estos son pequeños cuerpos compactos visibles únicamente cuando la célula no se encuentra en división celular. Los nucléolos están constituidos por proteínas y DNA, son porciones especializadas de los cromosomas en donde se encuentran los genes que dictan u organizan la síntesis del RNA ribosomal o RNAr. El RNA ribosomal se combina con proteínas para formar un complejo, que al separarse del nucléolo deja al núcleo y entra en el citoplasma, donde viene a formar parte de los ribosomas que ayudan a la síntesis protéica. Las células que sintetizan pocas proteínas usualmente no contienen nucléolo.

La envoltura nuclear rodea al núcleo y le permite realizar sus funciones aparte de las que se realizan en el citoplasma. Al igual que la membrana plasmática la envoltura nuclear consiste de dos capas de lípido, pero ésta presenta poros con láminas que los unen, estos poros selectivamente permiten el paso de moléculas grandes como proteínas y RNA, tanto hacia adentro como hacia afuera del núcleo.

### **El Citoplasma**

El citoplasma incluye todo el material celular que se encuentra afuera del núcleo, está rodeado de membrana citoplasmática. El citoplasma contiene un gran número de funciones y estructuras, la mayor parte de las cuales también están delimitadas por una membrana, estas estructuras se denominan organelos y son muy pequeños para poder ser observados con el microscopio de luz, el microscopio electrónico permite a los científicos observar su estructura muy detalladamente. El retículo endoplásmico es un sistema complejo de membranas con forma tubular y redondeada o aplanada, en sus espacios internos se encuentra un fluido y éstas vesículas o membranas pueden estar o no conectadas. El retículo endoplásmico rugoso tiene ribosomas adheridos a la superficie externa de la membrana, lo cual le da al organelo su característica apariencia rugosa. En los ribosomas se ha observado que principalmente contienen RNA ribosomal y son los sitios para la síntesis protéica. Cuando la membrana retículo endoplásmica carece de ribosomas se le denomina retículo endoplásmico liso. El retículo endoplásmico actúa junto con el aparato de Golgi en la síntesis y transporte de proteínas hacia el exterior de la célula.

La mitocondria es un organelo que tiene varias funciones y formas y participa en la respiración aeróbica. Estos organelos, generan la energía necesaria para que la célula lleve a efecto sus funciones. Ciertos cuerpos redondeados llamados lisosomas, contienen enzimas que actúan sobre un sustrato en partícula, que entra a la célula por la fagocitosis o la pinocitosis. Los lisosomas son capaces de degradar proteínas, grasas y carbohidratos en pequeños elementos, que puedan ser utilizados por la célula. La mayor parte de las células contienen vacuolas que están llenas de líquidos los cuales en ocasiones pueden ser observadas por el microscopio óptico. Debido a que la vacuolas son consideradas como elementos sin vida del citoplasma, éstas han sido categorizadas dentro del término inclusiones. Las vacuolas ayudan a excretar desechos así como el exceso de agua de la célula. Otras exclusiones en las células pueden ser cristales ó gránulos de pigmento.

Algunas células contienen microfilamentos, los cuales pueden estar arreglados en paralelo o en otra forma como las células musculares e incluso pueden encontrarse en una distribución aparentemente aleatoria. Los microfilamentos están asociados con la forma de la célula y el movimiento. Los microtúbulos son largos y delgados tubos, los cuales se encuentran a través del citoplasma y se cree guían el movimiento de los materiales.

Los microtúbulos también aparentemente permiten el apoyo estructural de la célula. Otros tipos de microtúbulos están incorporados en estructuras como los centriolos, los cilios y los flagelos.

Los centriolos son dos pequeños cuerpos oscuros y cilíndricos que están constituidos por microtúbulos.

Estos descansan proximos al núcleo. Cuando la mitosis se inicia los centriolos se replican y comienzan a separarse formando entre ellos un huso de fibras, conocido como el huso mitótico. El huso mitótico es muy prominente cuando los centriolos se han colocado en los polos del núcleo. Durante la mitosis los cromosomas se alinean a través de las fibras del huso. Los pares de cromosomas entonces se separan y cada miembro se mueve a lo largo del huso en una dirección opuesta, hasta que cada uno de ellos alcanza los extremos de la recién célula formada. Entonces cada nueva célula contiene un número igual de cromosomas, miembros uno de cada par.

Ciertos tipos de células tienen estructuras similares a cabellos que se proyectan sobre la superficie libre, es decir la superficie por la cual no están adheridas las células. Cuando estas proyecciones son numerosas y cortas (2-10 ), se les conoce como cilios, y las células en las cuales se localizan son conocidas como células ciliadas. Un conjunto de células ciliadas las cuales pueden encontrarse en las vías respiratorias, actúan en conjunto para mover líquidos o materiales sólidos en una dirección particular. Los cilios también ayudan para proporcionar motilidad a células de vida libre. Si las células tienen únicamente una estructura similar a un pelo (usualmente uno o dos) y estas estructuras son relativamente largas (100-200 ), la estructura es denominada flagelo. Las células que llevan flagelos son denominadas células flageladas. La función principal del flagelo es la de propulsión de la célula en un medio líquido. Cilios y flagelos son estructuralmente muy similares, su apariencia es la de una proyección sobre la membrana plasmática con una matriz de citoplasma, el cual contiene once juegos de microtúbulos.

#### **LOS TEJIDOS**

Las células están rodeadas por un material amorfo que las mantiene unidas o por material fibroso intercelular, que las une para que ellas puedan realizar propósitos específicos, en este caso al conjunto de células se le denomina tejido.

Los tejidos de los animales vertebrados pueden ser solo de cuatro categorías: Epitelio, tejido conectivo (incluye las células sanguíneas), tejido muscular y tejido nervioso.

#### **Epitelio**

El epitelio se presenta en hojas muy delgadas de células con muy escasa sustancia intercelular. Las células escasas son una lámina de soporte denominada lámina basal (antiguamente llamada membrana basal). Los epitelios tienen un borde libre o superficie, lo cual los hace situarse revistiendo cavidades, vasos sanguíneos, ductos de glándulas y órganos cavitarios.

Los epitelios protegen a los organismos colocándose como escudos que protegen estructuras internas de daños mecánicos, así como de la pérdida de fluidos. También tienen capacidad sensorial y contienen células especiales que detectan calor o dolor.

La morfología de un epitelio situado en una superficie libre revela su función. Por ejemplo, epitelios con una superficie queratinizada, protegen a los tejidos subyacentes contra la fricción o la abrasión y hacen a la superficie impermeable al agua. Las células con microvellosidades, las cuales son estructuras similares a pequeños dedos sobre la superficie celular incrementan en gran medida la superficie de absorción del tejido. Vacuolas celulares migrando a través de la superficie libre hacia el ambiente exterior, indican que el tejido tiene una actividad excretora o secretora. Algunos tejidos epiteliales tienen en su superficie cilios, en este caso los cilios ayudan a mover sustancias que se coloquen en la superficie del tejido epitelial, usualmente en una sola dirección. Como una regla el epitelio no contiene vasos sanguíneos o nervios. Las células epiteliales usualmente se nutren por la difusión de nutrientes presentes en el líquido intercelular.

La mayor parte de los tejidos epiteliales como la piel y el epitelio que delimita la pared del intestino, continuamente se encuentran bajo erosión. Tan pronto como las células que se encuentran en la superficie se pierden, estas son reemplazadas por células nuevas de las capas subyacentes. Debido a que las células nuevas continuamente están produciéndose en este tipo de tejido, es muy fácil encontrar mitosis en él y en los casos de investigaciones que requieran encontrar este fenómeno, el tejido epitelial es el tejido de elección.

#### **Tejido Conectivo**

El término de tejido conectivo, se refiere a una variedad de tejidos que se desarrollan del mesodermo diferenciado del embrión. Este tejido se caracteriza porque las células se encuentran rodeadas por una sustancia amorfa, que está contenida en el líquido intercelular. Este líquido es el medio por el cual los nutrientes y los productos de desecho, son intercambiados con la sangre. Generalmente, el tejido conectivo es clasificado en cuatro diferentes subtipos: tejido conectivo laxo y denso, tejido adiposo, cartilago y hueso. Aunque las células sanguíneas no forman parte de manera estricta del tejido conectivo, ellas generalmente son contempladas por conveniencia como miembros del tejido conectivo.

**Tejido Conectivo Denso:** El tejido conectivo denso se caracteriza por la presencia de células fibroblastos, o fibrocitos rodeados por fibras elásticas y colágenas, que se encuentran enbebidas en la sustancia amorfa. Las fibras colágenas le confieren dureza, resistencia y tensión, así como elasticidad, este tejido se encuentra principalmente en tendones donde existen largas bandas de fibras colágenas.

Las fibras colágenas también son responsables de la dureza de la carne. Tratando químicamente las fibras colágenas se desnaturalizan y ellas forman la gelatina. Un pegamento también puede ser formado a través del colágeno. El tejido conectivo elástico puede ser estirado y distorcionado, pero siempre regresa a su figura o forma original. El tejido conectivo elástico es un componente importante de las arterias, las cuales deben tener propiedades elásticas que permitan mantener la presión de la sangre a través del bombeo cardiaco.

**Tejido Conectivo Laxo:** El tejido conectivo laxo esta compuesto de células fibroblastas rodeadas por fibras que forman grandes espacios capaces de mantener grandes volúmenes de líquido. El tejido subcutáneo es un típico ejemplo. Tejido reticular, este es otro tipo de tejido conectivo laxo. Se caracteriza por estar rodeado por una fina malla de células que rodea a las células adiposas, así como también forma una estructura de soporte en órganos como los nódulos linfoides, el bazo y el hígado.

**Tejido Adiposo:** El tejido adiposo o grasa, esta compuesto por una fina trama de fibras laxas que soportan a las células adiposas, las cuales están llenas con grasas líquidas. El metabolismo de este tejido produce energía y calor. La grasa blanca es abundante a través del cuerpo donde se encuentran espacios de tejido conectivo laxo. La grasa café la cual es especialmente abundante entre las escápulas, se encuentra principalmente en las especies de mamíferos pero es mucho más abundante en las especies que hibernan. La grasa café es un tejido especializado el cual bajo ciertas condiciones ambientales genera calor y mantiene la temperatura corporal.

**Cartilago:** El cartilago es una variedad de tejido conectivo especial que contiene condrocitos, o células cartilaginosas, las cuales se encuentran enbebidas en un material semi-rígidos parecido a un gel denominado matriz. El cartilago puede existir en tres formas las cuales se distinguen por la presencia, proporción de fibras y la consistencia de su matriz. En los mamíferos las superficies articulares, los anillos traqueales y la laringe estan compuestos de cartilago hialino. Estructuras como la epiglótis, las trompas de eustaquio, el pabellón auricular o pinna, son estructuras compuestas por cartilago elástico. La sínfisis púbica, los discos intervertebrales y algunas uniones al tejido óseo tendinosas están compuestas por fibrocartilago.

**Hueso:** El hueso difiere de otros tejidos conectivos en que la sustancia extracelular es dura, lo que lo hace ideal para formar estructura de soporte. Existen relativamente pocas células óseas u osteocitos con relación a la cantidad de sustancia fundamental, ésta se compone por fosfatos de calcio. El hueso compacto es el que se encuentra principalmente en los huesos largos como los fémures y húmeros. También se encuentra rodeando la cavidad medular, la cual a su vez contiene a la médula ósea.



El hueso canceloso o esponjoso se encuentra en la terminación hacia los huesos largos.

Tipos Celulares presentes en el Tejido Conectivo: Las células que se encuentran en el tejido conectivo son de dos tipos; fijas y móviles. Los fibroblastos, los condrocitos, los osteocitos y las células adiposas son células fijas. Los macrófagos fijos o histiocitos son similares a los fibroblastos, pero pueden tener motilidad en caso de que la necesiten para realizar la fagocitosis de cuerpos extraños. Las células móviles emigran del torrente sanguíneo con movimientos amiboideos. Los monocitos, los eosinófilos, los neutrófilos y linfocitos son típicas células móviles; ciertos linfocitos se diferencian en células plasmáticas, las cuales son células productoras de anticuerpos. Las células cebadas como mastocitos son células abundantes en los vasos sanguíneos de los mamíferos, éstas contienen heparina, la cual es un anticoagulante e histamina, el cual ocasiona un incremento en la permeabilidad vascular y disminuye la presión sanguínea. En los roedores los mastocitos también producen serotonina, sustancia que tiene propiedades similares a la histamina.

#### **Tejido Muscular**

Existen dos tipos de tejido muscular: El liso y estriado. Los dos tipos de células contienen miofibrillas, la estructura de estas miofibrillas permite a las células musculares contraerse. El músculo liso presenta contracciones tónicas, rítmicas e involuntarias como respuesta a las condiciones del ambiente que lo rodea; esto ocurre en el tracto digestivo, esófago, estómago, intestinos y otros órganos digestivos; También se presenta en los ductos de las glándulas, en parte del sistema respiratorio, en los vasos sanguíneos y en órganos como la vejiga urinaria y el útero. Las contracciones rítmicas en el músculo liso son similares a ondas que se esparcen a través del órgano, así mismo las células musculares se encuentran en un estado continuo de preparación a la contracción muscular, lo que se conoce como tono muscular, el cual ayuda a que el órgano mantenga su forma y su posición en el cuerpo.

Existen dos tipos de células musculares estriadas: células musculares esqueléticas, las cuales se contraen voluntariamente y células musculares cardíacas las cuales se contraen involuntariamente; el tejido muscular esquelético es capaz de realizar contracciones extremadamente rápidas y poderosas, mientras que el músculo cardíaco sus contracciones no son tan fuertes y usualmente se presentan de una manera pulsante y rítmica. El músculo estriado usualmente se une a otros tipos de tejidos conectivos a través de la estructura denominada fascia. La diferente retractividad de cada miofibrilla de las células musculares se debe a la estriación cruzada del músculo.

## Tejido Nervioso

La mayor parte de los nervios están constituidos por cientos de células nerviosas o neuronas, cada una con un cuerpo celular nucleado y con una extensión similar a un pelo que se prolonga de la célula denominada axón, con un número de pequeñas extensiones abundantes ramificadas, que se les denomina dendritas (ver fig. 5.12, pag. de la sección I de este Manual de entrenamiento). Una propiedad esencial del tejido nervioso es su capacidad para comunicarse con otros tejidos nerviosos y otros tipos celulares, como puede ser el músculo. Para efectuar esta comunicación el tejido nervioso, genera impulsos en respuesta a estímulos y los transmite de una célula nerviosa a otra o a células musculares. Los impulsos viajan a través de los nervios y usualmente en una sola dirección, típicamente ocurren del axón de una neurona a la dendrita de la siguiente; en algunos casos sin embargo, los impulsos pueden moverse del axón a axón o incluso de dendrita a dendrita.

Los axones usualmente están rodeados por una envoltura de mielina, la cual actúa como un aislante y le proporciona a los nervios su aparente color blanco; La mielina también esta presente en algunas células nerviosas del sistema nervioso central, formando la sustancia blanca de este sistema. Las células nerviosas de la sustancia gris, usualmente carecen de una envoltura de mielina. A lo largo de los axones la integridad de la mielina se interrumpe por los nodos denominados nódulos de Ranvier. Estos nodos facilitan la transmisión de las ondas de despolarización y polarización de la membrana, la cual está asociada con cambios rápidos en las concentraciones de iodo y potasio a lo largo de los axones. Como consecuencia de esta polarización, se transmiten los impulsos nerviosos.

La sinapsis son uniones o puntos de transferencia de los impulsos nerviosos, entre las neuronas y los tejidos receptores, como puede ser el tejido muscular. Las sinapsis son, en realidad, pequeños espacios o intervalos a través del impulso nervioso. Los neurotransmisores son la porción final de las ramas terminales de las fibras nerviosas aferentes, difundiendo rápidamente a través de los intervalos para estimular a otras neuronas. La unión neuronal en el sistema nervioso simpático libera catecolaminas principalmente norepinefrina. Las uniones neuronales en el sistema nervioso parasimpático y en los receptores del músculo esquelético, liberan acetilcolina. La enzima acetilcolinesterasa remueve rápidamente o inactiva a la acetilcolina en la sinapsis, ya que de no ocurrir esto, el músculo efector u órgano efector podría encontrarse en un estado constante de estimulación. Muchas sustancias pesticidas neurotóxicas, inhiben o inactivan a esta enzima. En los mamíferos esto puede resultar en una diarrea profusa, salivación, dificultad para respirar, convulsiones, ocasionando posiblemente la muerte.

## CAPITULO CINCO

## PARTICULARIDADES ANATOMICAS DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO

En la sección I de este manual de entrenamiento se presentó una descripción de las características generales de los mamíferos, también se presentaron en esta sección, algunas de las características anatómicas especiales de los animales de laboratorio, que es necesario que conozca el técnico para realizar sus procedimientos de rutina. En este capítulo presentaremos una discusión más profunda de las características anatómicas de varios animales de laboratorio, con énfasis en aquellas que son únicas para una especie en particular. Estas características anatómicas específicas de especie son importantes para los investigadores, quienes han desarrollado técnicas de investigación y también para los patólogos quienes necesitan conocer las diferencias entre tejidos anormales y características particulares de una especie.

## EL RATON

El ratón es la especie más pequeña de animales de laboratorio comúnmente utilizada (Mus musculus), el cual es un miembro de la familia Muridae. Al igual que la mayoría de los mamíferos pequeños, el ratón tiene un rápido latido cardiaco (+300/min.), así como también una frecuencia respiratoria alta (+ 100/min.). El ratón tiene varias características especiales en su sistema esquelético que lo distinguen de otros animales de laboratorio. Por ejemplo, la frecuente calcificación del cartilago costondral, el cual se localiza en las costillas y el esternón. Así mismo la médula ósea del ratón permanece activa durante la mayor parte de la vida del animal, mientras que en la mayor parte de los mamíferos adultos la mayoría de esta médula es reemplazada por grasa. El ratón tiene cinco pares de glándulas mamarias; tres pares torácicas y dos abdominales. El tejido de la glándula mamaria del ratón se extiende sobre su espalda y los hombros; por lo tanto los tumores mamarios son frecuentemente encontrados lejos de lo que podría ser la región de los pezones.

El tracto digestivo y los órganos anexos del ratón varían con respecto de otros animales de laboratorio. El esófago por ejemplo, carece de glándulas secretoras de moco que son muy comunes en otras especies. También el esófago del ratón el cual está revestido por un epitelio estratificado escamoso penetra en el estómago hacia el centro de la curvatura menor y hacia arriba.

El estómago del ratón está dividido en una porción glandular y una porción no glandular con paredes delgadas. La porción no glandular del estómago está delineada o recubierta al igual que en el esófago por epitelio estratificado escamoso. La porción glandular del estómago es similar a la del estómago de otras especies de animales de laboratorio. El páncreas del ratón no es una glándula muy obvia, de hecho consiste en lóbulos organizados de tejido diperso en el mesenterio los cuales hacen al páncreas

difícil de identificar desde el punto de vista macroscópico.

Los ductos pancreáticos entran al duodeno directamente, mientras otros entran al conducto biliar común. Frecuentemente el ratón tiene ductos pancreáticos adicionales que pasan directamente hacia el duodeno. El ratón carece de ostra (saculaciones) ó taenia coli (las bandas longitudinales de tejido muscular y conectivo). El hígado del ratón está compuesto de cuatro lóbulos; un lóbulo largo medial, lóbulos derecho e izquierdo laterales, y un lóbulo izquierdo caudal. La vesícula biliar se localiza sobre el lóbulo caudal o sobre la superficie posterior del lóbulo medial.

El ratón tiene varias peculiaridades anatómicas. El bazo del macho por ejemplo es un 50% más grande que el de la hembra. Esto es importante considerarlo cuando se realizan investigaciones con datos referentes al peso de órganos. En ambos sexos el timo consiste de dos lóbulos bien delimitados que se encuentran en la cavidad torácica, ventrales al arco aortico. En el ratón adulto el timo es delgado y similar a una hojuela, mientras que en la mayor parte de las demás especies es proporcionalmente grueso.

El ratón tiene varias estructuras especializadas, por ejemplo, tiene dos juegos de glándulas asociadas con los ojos; un juego, las glándulas de Harder que están localizadas detrás de los ojos, particularmente rodeando el nervio óptico. Estas glándulas secretan una sustancia oleosa sobre la superficie de la membrana nictitante (tercer párpado), que ayuda a lubricar estas estructuras, el ratón tiene otros dos pares de glándulas lagrimales, una de las cuales se localiza anterior y ligeramente por debajo del pabellón auricular y la otra en el cantus lateral. Su función es la de lubricar el cantus lateral, o la esquina del párpado a través de los conductos.

El ratón presenta depósitos de grasa café en varias partes, por ejemplo, entre la escápula, en la región cervical, rodeando riñones, el timo y el mediastino. La grasa café ha sido referida como una glándula de hibernación y puede ser una fuente de calor energético para los animales y especialmente más desarrollada en los animales que hibernan.

#### LA RATA

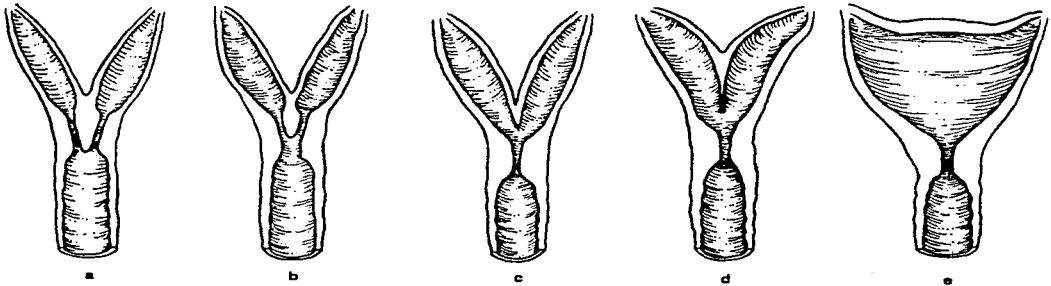
La rata (Ratus norvegicus) es también un miembro de la familia Muridae. Las principales características anatómicas de la rata son en términos generales iguales a las del ratón, con algunas pocas excepciones. La rata crece estructuralmente a través de toda su vida, los centros de crecimiento de sus huesos largos no cierran, por el contrario continúan creciendo durante toda la vida del animal. En la rata adulta la grasa reemplaza a la médula ósea en los huesos largos, por lo tanto los investigadores no pueden usar huesos largos de ratas viejas como una fuente de médula ósea. El tejido mamario se extiende dorsalmente en la rata pero no tanto como lo hace en el ratón. De hecho los tumores mamarios se localizan principalmente en la región ventral.

El sistema digestivo de la rata es muy similar al del ratón, con las observaciones del estómago y la estructura general del

intestino delgado, sin embargo en la rata y más aún en el ratón el páncreas se encuentra difuso a través del tejido mesentérico, esta difusión pancreática es mucho más grande que en otras especies de animales de laboratorio como el gato o el perro. El páncreas de la rata tiene muchos ductos que afieren al duodeno directamente con enzimas pancreáticas. El hígado de la rata también tiene cuatro lóbulos pero sus arreglos difieren de los del ratón, el hígado de la rata tiene un lóbulo derecho con lóbulos anteriores y posteriores y un gran lóbulo izquierdo, así como un pequeño lóbulo caudal. Una característica anatómica distinta importante de la rata, es que carece de vesícula biliar, una característica que comparte con el caballo. En ausencia de vesícula biliar para almacenar la bilis se presenta un flujo continuo de bilis en el duodeno. La rata macho tiene un gran número de glándulas accesorias o anexas, la mayor parte de las cuales se encuentran en pares y localizadas en la cavidad abdominal. Tiene dos pares de glándulas prostática, un par de vesículas seminales, un par de glándulas de la coagulación y un par de glándulas de lamb, también tiene un par de glándulas bulbouretrales que se localizan distalmente y hacia afuera de la región pélvica cerca del pene. Al igual que otros roedores el macho tiene un hueso peneano (un hueso central que proporciona rigidez al órgano todo el tiempo) y un canal inguinal abierto, consecuentemente los testículos descienden fácilmente y se comunican también con la cavidad abdominal. El útero de la hembra es duplex, o tienen dos cuernos los cuales se conectan con el cervix (Fig. 5.1).

En la rata sexualmente madura, la glándula pituitaria y la glándula adrenal son mayores en las hembras que en los machos.

Como en el caso del ratón, la rata posee glándulas de Harder. Estas grandes glándulas lagrimales se localizan detrás de los ojos y secretan un fluido que contiene porfirinas rojas. Este material es el responsable de la presencia de depósitos rojizos, que ocasionalmente se encuentran alrededor de los ojos de las ratas y se presenta especialmente cuando los animales han sido sometidos a estrés, manejo inadecuado, así como ciertas enfermedades como puede ser la infección por coronavirus.



**Figura 5.1** Estructura uterina de los animales de laboratorio más comunes. El útero duplex del ratón, la rata, y el conejo (a), del cobayo (b): en estos animales existen dos cervix, no hay cuerpo uterino, y los cuernos uterinos están completamente separados. El útero bicorneo del cerdo de guinea (c): en este animal hay un solo cervix y un cuerpo uterino pequeño, y los cuernos uterinos están unidos en su base. El útero bipartita del perro, el gato, la vaca y la oveja (d): en estos animales solamente hay un cervix y un septo separa a los cuernos uterinos. El útero simple de los primates (e): los primates tienen un cervix, un útero prominente y no tienen cuerno uterinos.

## EL HAMSTER SIRIO

El hámster sirio o dorado (*Mesocricetus auratus*) es también un roedor pero pertenece a la familia Cricetidae más que a la Muridae. Los hámsters tienen varias características anatómicas de particular importancia. El nombre genérico de hámster es traducido del originario de "saddle bags", es decir referente a los grandes sacos bucales que presenta este animal, los cuales se tienen posteriormente desde la mejilla hacia la escápula y son utilizados para almacenar y transportar cualquier cosa de material de cama hacia las crías.

Los hámsters son excelentes modelos, tanto para trasplantes de tejido normal como neoplásico. Esta capacidad resulta de que el animal tiene un alto grado de tolerancia inmunológica, lo cual es particularmente propio de los tejidos epiteliales de las bolsas bucales.

Los hámsters tienen glándulas sebáceas conocidas como glándulas de los flancos, las cuales se localizan en una posición posterior a la caja torácica de cada animal, estos pequeños depósitos café oscuro de las glándulas usualmente están cubiertos por el pelaje del hámster. Los animales marcan su territorio con secreciones de estas glándulas y estas secreciones también juegan un papel importante en su conducta de apareamiento. Las glándulas de los flancos son mucho más prominentes en los machos que en las hembras.

El tracto digestivo del hámster es diferente del de los otros roedores. En el estómago existe una bolsa pregástrica conocida como divertículo, a través de la cual el alimento pasa antes de alcanzar el estómago verdadero. La función del divertículo es, la de proporcionar un mecanismo pre-gástrico de alimento fermentado. El divertículo no contiene glándulas y se encuentra separado de la porción glandular del estómago por un pliegue rígido, que se encuentra entre la curvatura menor del estómago. El estómago está dividido en dos compartimientos, el estómago anterior y el estómago glandular. El hígado del hámster está dividido en cuatro lóbulos mayores, los lóbulos dorsocaudales derecho e izquierdo y los lóbulos medianos ventral y dorsal. El páncreas como en el caso de la rata es difuso.

En contraste con el ratón, las glándulas adrenales de los hámsters macho son normalmente más grandes que las de la hembra y el bazo es pequeño. Las glándulas anexas al aparato reproductor del macho son similares a las de la rata y ratón, así como a las de otros roedores machos, el canal inguinal permanece abierto y permite que los testículos se comuniquen con la cavidad abdominal. El útero de la hembra hámster es duplex y cada cuerno uterino tiene un cervix, el cual comunica directamente con la vagina.

Las ratas, los ratones y los hámsters tienen glándulas de Harder localizadas detrás de los ojos. En algunos hámsters existen placas de cartilago en forma de "v" en la tráquea, en lugar de los aros de cartilago normales de estos animales.

## EL COBAYO

El cobayo (Cavia porcellus) es un roedor que pertenece a la familia Cavidae. Una de las principales características, es su precocidad cuando son juvenes. Los cobayos nacen con los ojos abiertos y los dientes brotados. Al nacimiento ya pueden gatear y caminar, unas pocas horas después del nacimiento son también capaces de comer y beber de los comederos especiales.

Todos los cobayos tienen un crecimiento continuo de sus incisivos. En el tracto digestivo de los cobayos se encuentra presente un ciego de gran volumen, que es básicamente un órgano de fermentación. El ciego sin embargo es poco característico de los roedores debido a que comprende porciones del tracto digestivo bajo. El ciego tiene una forma de "C" en dirección de derecha a izquierda y termina en una estructura alargada denominada apéndice cecal. El hígado es bilobulado y tiene únicamente un lóbulo izquierdo y un lóbulo derecho. El lóbulo derecho está dividido en tres lóbulos y la vesícula biliar se localiza generalmente bajo el segundo o lóbulo intermedio. El páncreas es relativamente grande, con una porción terminal (la cabeza) adherida al duodeno y otra permanece libre. Los ductos del páncreas entran a la porción baja del duodeno.

Los cobayos tienen dos glándulas adrenales que no tienen una forma idéntica. La glándula adrenal izquierda se encuentra verticalmente alargada, mientras que la glándula adrenal derecha tiene una forma aplanada. Estas glándulas se localizan en la porción anterior del riñón.

El seminal tiene un pene corto que está cubierto con pelo capilar y dos espinas eréctiles. La mayor de las glándulas accesorias son las vesículas seminales y éstas fluctúan en un tamaño de hasta 10 cm. de largo. Debido a que el canal inguinal se encuentra abierto los testículos pueden retraerse dentro de la cavidad abdominal. La hembra tiene el útero dividido y separado cada cuerno por un cervix. En todas las hembras se encuentra una membrana vaginal, esta estructura no se encuentra en los animales en estro o próximos a parir. Un aspecto importante de la anatomía de la hembra del cobayo es, la habilidad de su pelvis para acomodar el poco usual tamaño del la cría al momento del nacimiento. Durante la última parte de la gestación y bajo la influencia de la hormona relaxina la sínfisis púbica se separa, al momento del parto el espacio puede ser tan grande hasta como de 22mm. Conforme la hembra envejece su habilidad para que la sínfisis púbica se separe va disminuyendo. La hembra por lo tanto debe ser utilizada para reproducción antes de que la fusión de la sínfisis púbica ocurra (antes del octavo o noveno mes de edad), con el propósito de evitar la distosia (dificultad al parto).

Durante la gestación o durante los periodos de estimulación por hormonas estrogénicas, es posible observar en la corriente sanguínea de los cobayos, la presencia de leucocitos mononucleares con inclusiones intracitoplasmáticas que contienen glicoproteínas.



## EL CONEJO

El conejo (Orytolagus cuniculus) es un lagomorfo, el cual se distingue de los roedores por la presencia de dos pequeños incisivos en el maxilar superior, los cuales se localizan por detrás de los incisivos superiores largos.

Unicamente el 8% del peso total de los conejos se debe a su esqueleto, mientras que en el gato el esqueleto comprende alrededor del 13% del peso corporal. Un resultado de este esqueleto tan ligero es que la espalda del conejo es sumamente frágil. Por lo tanto, un empuje de sus muy bien desarrolladas patas traseras, puede ocasionar fácilmente la ruptura de la espalda, por esta razón debe tenerse mucho cuidado cuando se manejan conejos.

Los dientes de los conejos al igual que los del cobayo presentan raíces abiertas, el crecimiento más significativo se presenta en los incisivos. Los conejos tienen de cuatro a cinco glándulas mamarias; dos glándulas en la región torácica y de dos a tres pares en la región abdominal.

Los conejos tienen varias características especiales en la boca, por ejemplo, tienen un labio superior dividido o hendido. La superficie de su lengua es suave en la porción dorsal, rugosa en la porción anterior y dura pero suave en la porción posterior. Las papilas cubren la superficie total de la lengua. El conejo tiene amígdalas y glándulas salivales muy bien desarrolladas, las glándulas parótidas son las más grandes.

El estómago tiene una pared delgada y rápidamente degenera después de la muerte. El intestino delgado contiene grandes agregados de pequeños nódulos linfoides denominados placas de Peyer, los que sabemos son parte del sistema linfático, pero estos nódulos carecen de corteza y de médula. Existen también nódulos linfoides a nivel del sáculo rotundo (una estructura similar a un saco en donde se une el ciego y el ileon).

El ciego de los conejos es extremadamente grande, su porción terminal es denominada apéndice cecal o proceso vermiforme. El colon tiene ostras y taenia coli. El hígado esta conformado por cuatro lóbulos, los lóbulos anteriores derecho e izquierdo y los lóbulos posteriores derecho e izquierdo. La vesícula biliar se encuentra en la superficie posterior del lóbulo anterior derecho. El páncreas de color café claro es difuso y se encuentra entre la grasa abdominal. La glándula adrenal del conejo usualmente presenta una corteza delgada.

Los conejos (así como los gatos) tienen una membrana nictitante muy prominente, la cual en ocasiones presenta un sangrado retro-orbital. Las grandes orejas de los conejos están desarrollados para colectar el sonido, por eso es que se presentan una profusa vascularización, también las orejas de los conejos participan en la regulación del calor.

Los conejos tienen varias peculiaridades en su sistema cardiovascular, por ejemplo, el corazón es relativamente pequeño y tiene una válvula bicuspidé atrio ventricular derecha, a diferencia de la válvula tricúspide que usualmente se encuentra en la mayor parte de los mamíferos. Las venas de los conejos son muy delicadas y fácilmente se rompen, por lo que se debe tener

un cuidado muy especial cuando se están administrando inyecciones vía endovenosa. Algunas de las células sanguíneas de los conejos y del cobayo son poco usuales, ya que por ejemplo, los neutrófilos parecen eosinófilos debido a la presencia de gránulos intracitoplasmáticos eosinofílicos. Estos neutrófilos son referidos como pseudo-eosinófilos, heterófilos, o amphofílicos.

En el conejo macho están presentes cuatro tipos de glándulas anexas al aparato reproductor: la glándula prostática, las vesículas seminales, las glándulas bulbo-uretrales y las glándulas ampulares. No existe hueso peneano. Los testículos se sitúan en los sacos inguinales (no hay sacos escrotales característicos) y se comunican con la cavidad abdominal. El útero bicornado de la hembra tiene un cuerpo uterino y dos cervix.

#### EL GATO

El gato (Felis catus) es un carnívoro y miembro de la familia Felidae. Existen varias características anatómicas distintivas en el gato. La hembra tiene de cuatro a cinco pares de glándulas mamarias, la más grande está localizada en la región inguinal. Así como el conejo, el gato tiene una membrana nictitante evidente lo cual dificulta el sangrado retro-orbitario si no es que lo hace imposible.

El sistema digestivo del gato es el característico de los carnívoros, la longitud del intestino es proporcionalmente más corta que en el caso de un herbívoro. Las amígdalas se presentan en la pared dorsal del paladar blando. Como cualquier otro mamífero el gato tiene la usual glándula parótida, submaxilar y glándula sublingual. Sin embargo también tiene dos juegos adicionales de glándulas salivales, la molar y la infraorbital. El tracto gastrointestinal de los felinos carece de una apéndice y también de la taenia coli y ostras que aparecen en el colon. El gato posee sacos anales hacia la base del recto, los cuales ocasionalmente se inflaman y pueden infectarse. El hígado tiene cinco lóbulos: lateral y medial izquierdo, medial derecho, lateral derecho y el caudal. El páncreas de los felinos tiene dos lóbulos bien definidos (derecho e izquierdo) con dos ductos. Un conducto vacía directamente hacia el conducto biliar común, el cual a su vez vacía en la porción craneal terminal del intestino delgado o del yeyuno. El otro conducto vacía hacia el duodeno cerca de su porción terminal craneal.

El riñón del gato tiene una apariencia como de frijol. La cápsula del riñón es relativamente gruesa y cuando se remueve permite observar un color amarillento, más que el normal rojo-café que se puede observar en otros mamíferos. Este color poco usual resulta de la alta concentración de grasa que puede estar presente en los riñones de los felinos.

El macho tiene testículos escrotales; esto es a diferencia de los roedores, los testículos permanecen en los sacos escrotales. El macho tiene un pene corto y de superficie rugosa, el cual está cubierto por papilas muy finas. Respecto a las glándulas asociadas al aparato reproductor, únicamente la próstata y las glándulas bulbo-uretrales se encuentran presentes en este animal.

La hembra tiene un útero bipartido; es decir es un útero consistente de dos cuernos, un cervix y un cuerpo uterino muy evidente.

#### EL PERRO

El perro (Canis familiaris) es un carnívoro que pertenece a la familia Canidae. La hembra tiene cuatro o cinco pares de glándulas mamarias, las mayores se encuentran en la región inguinal. El sistema esquelético del perro se parece mucho al del gato; por ejemplo tanto el perro como el gato tienen clavículas cartilaginosas que no articulan con la escápula.

El sistema digestivo del perro es típico de un carnívoro con un intestino relativamente corto. El perro tiene amígdalas localizadas en las criptas de las tonsilas de la pared lateral de la faringe. La única característica poco usual del esófago es que inicia estrecho, lo cual es atribuible al engrosamiento de las membranas que contienen numerosas glándulas mucosas. El estómago e intestino delgado del perro no tienen características especiales anatómicas. El ciego es relativamente pequeño en el perro y tiene una forma irregular. No existen taenia coli ni ostras en el cólon. Las glándulas anales se encuentran en la base del recto; estas glándulas frecuentemente se irritan y se impactan. El hígado tiene cinco lóbulos: el lateral izquierdo y el central izquierdo, lateral derecho y central derecho y caudal. El páncreas tiene una forma de "v" y presenta dos conductos. La estructura y localización de estos conductos es aproximadamente la misma que en el caso del gato.

El bazo de los caninos varía en forma y localización. Como una regla, la porción distal es mayor que la porción proximal. Bajo condiciones normales el bazo se encuentra debajo del estómago o en la vecindad del riñón a lo largo del flanco izquierdo; esta última es la más visible.

Los testículos se encuentran dentro de los sacos escrotales y no se comunican con la cavidad abdominal. El pene es largo y contiene un hueso peneano. La glándula prostática es relativamente grande y bilobulada. El macho también tiene glándulas ampulares. La hembra tiene el útero bipartido que se comunica con un cervix único. Los ovarios de la perra son relativamente pequeños.

#### PRIMATES NO HUMANOS

Los primates no humanos pueden ser clasificados como prosimios y simios. Prosimios (significa antes que los monos) se refiere al grupo de primates que son más similares a un gato y a una rata, solo en apariencia. Este grupo incluye los animales con tres dientes, los bebes de los bosques, los lemures, los lorises y los tarsieros. Aunque estos animales difieren de los simios en apariencia, los prosimios comparten algunas características anatómicas con los simios. Estos tienen clavículas que articulan con las espaldas, tienen dientes permanentes y deciduos, ojos encajados y rodeados por hueso, un pene penduloso y escroto testicular. La característica que más distingue a los prosimios de los simios es su dedo pulgar opuesto. Los prosimios son raramente usados en la investigación animal.

Basado en la distribución geográfica, los simios deben ser divididos en dos grandes grupos, los monos del Viejo Mundo (Catarrhini) y los del Nuevo Mundo (Platyrrhini). Los monos y primates del Viejo Mundo tienen diferentes características que los distinguen de los del Nuevo Mundo. Ellos tienen 32 dientes permanentes bajo la fórmula dental:

$$\begin{array}{r} 2123 \\ \text{-----} \times 2. \\ 2123 \end{array}$$

Tienen prominentes ollares y septos nasales estrechos en la nariz. Parches isquiales o callos (ischial callosities) se encuentran en el trasero de la mayor parte de los simios del Viejo Mundo, así como también sacos bucales. La cola de los monos del Viejo Mundo no es prensil y no es usada para sostenerse en las ramas. El dedo pulgar oponible es considerado como más desarrollado en los monos del Viejo Mundo que en los del Nuevo Mundo.

Los monos del Viejo Mundo tienen menos demandas nutricionales que los monos del Nuevo Mundo. Mientras que todos los primates (incluyendo humanos) requieren suplementación de vitamina "C", los requerimientos de vitamina "D" de los animales del Viejo Mundo pueden ser llenados con vitamina "D2" (es decir la proveniente de las plantas) o "D3" (la forma animal), mientras que los animales del Nuevo Mundo requieren de vitamina "D3". Acerca de las dietas de mantenimiento, los requerimientos de proteína cruda de un mono del Viejo Mundo es del 15%, mientras que un adulto del Nuevo Mundo requiere un 25%.

Los ancestros de los monos del Nuevo Mundo preceden de sus primos del Viejo Mundo. Los monos del Nuevo Mundo tienen cabezas redondeadas y carecen de ollares y la mayor parte tiene 36 dientes permanentes con una fórmula dental de :

$$\begin{array}{r} 2123 \\ \text{-----} \times 2 \\ 2123 \end{array}$$

Ellos tienen un ancho septo nasal y largas narices ovaladas. Carecen de parches isquiales o de sacos bucales. Algunos pero no todos los monos del Nuevo Mundo tienen colas prensiles. Los monos del Nuevo Mundo son nutricionalmente más demandantes que los monos del Viejo Mundo.

## CRIANZA Y REPRODUCCION

Esta unidad se desarrollan más adelante aspectos de la reproducción y crianza de animales de laboratorio, la base de los cuales fueron discutidos en la sección I de éste manual de entrenamiento.

El texto explica los principios básicos de los programas consanguíneos y no consanguíneos, expone los principios, técnicas de inseminación artificial, fertilización invitro y cuidado de las crías de primates no humanos. En adición, esta unidad cubre los principios básicos de manejo para mantener algunas de las especies menos comunes, usadas en programas especializados de investigación. Toda ésta información es esencial para los tecnólogos de animales de laboratorio, para ayudarlos a tener un entendimiento completo de sus responsabilidades en el desarrollo y cuidado de los programas de reproducción del laboratorio animal.

## CAPITULO SEIS GENETICA Y REPRODUCCION

Muchos estudios requieren de animales con características genéticas definidas ó portadoras de genes mutantes específicos. Para usar y mantener tales animales, se necesitan conocimientos de genética a un nivel más avanzado que la genética Mendeliana simple. Además usted tiene que ser capaz de aplicar esos conocimientos en su trabajo. Con las cepas y líneas de animales que existen en su bioterio.

### PATRONES DE LA HERENCIA.

La genética Mendeliana simple, que es el fenómeno de la dominancia y la recesividad, explica el mecanismo básico del pase del material genético de una generación a la siguiente. La herencia Mendeliana cualquiera que sea, no explica porque algunas características se expresan por si mismas en un solo sexo, porque algunos se presentan en rangos de intensidad o grados, o porque algunos se muestran en ciertos miembros de la población pero no en otros.

### Penetrancia

Penetrancia se refiere a la presencia de un rasgo en un individuo que tiene el mismo genotipo para ese rasgo, igual que otros individuos de la misma especie en los cuales este no está expresado. La penetrancia de un gen se refiere al porcentaje de incidencias en el cual el rasgo es expresado entre un número dado de individuos portadores de esa característica. Si una característica es expresada en la mitad de los homocigotos de una población en particular, la penetrancia es del 50%.

La conformación de una cepa cruzada abiertamente y que es uniforme genéticamente puede deprimir la expresión de un particular gen mutante espontáneo. Así este mismo gen mutante puede mostrar una mayor ó menor penetrancia cuando es impuesta en otros genotipos.

#### **Expresividad**

Otro parámetro genético de interés que a veces es confundido con la penetrancia, es el grado de expresividad. Mientras que el porcentaje de penetrancia revela cuantos individuos de un grupo dado muestran una característica, el grado de expresividad revela la magnitud de expresión en esos individuos que la mostraron.

Como ejemplo de expresividad; se conoce que el 45% de una colonia de ratones cruzados abiertamente tienen hidronefrosis, y que en muchos animales afectados las lesiones son poco severas y en otros la severidad es mayor. Para éste grupo hipotético el porcentaje de penetrancia es de 45% y el grado de expresividad debe ser expresado como +, ++, +++, respectivamente.

#### **Características Discretas y Continuas**

Las características son discretas o discontinuas, si su expresión es reconocible como distinta, fija y cualitativa. Ejemplos de características discretas son el color del pelo, tamaño de la camada y sexo. Las características discretas pueden ser el resultado de la acción de uno ó varios pares de alelos.

Las características son continuas si sus expresiones son funciones de tiempo, y/o son cuantitativas. Ejemplo de características continuas son peso corporal y longevidad. Las características continuas resultan de la acción acumulativa de varios genes por relativamente largos periodos de tiempo y pueden variar a continuas dentro de dos extremos.

**Tabla 6.1. Número de cromosomas en los animales de laboratorio más comunes.**

<b>Especie</b>	<b>Número (2N)</b>
Gato	38
Perro	78
Cobayo	64
Hámster	44
Ratón	40
Conejo	44
Rata	42
Primates (Rhesus)	48
Pollo	78

### Anormalidades Cromosómicas

Cada especie tiene un número característico de cromosomas, o par de cromosomas. Observando los cromosomas microscópicamente, o por cariotipificación, los cromosomas pueden ser identificados y pareados de acuerdo con su tamaño y forma. El número de pares es el número N. La mayoría de las células tienen  $2N$  cromosomas (2 veces el número de cromosomas pares), lo cual representa uno de cada par de cromosomas de cada padre.

Un cariotipo es la representación microfotográfica de un organismo justo antes de la división. La microfotografía es manipulada para que los cromosomas se presenten en pares, en orden descendente de tamaño y de acuerdo con las relativas posiciones de los centromeros. Los cariotipos facilitan la identificación de ciertos tipos de desordenes genéticos, que resultan en obvias diferencias en la estructura y número de los cromosomas. Esto también ayuda a identificar especies y subespecies. Por ejemplo entre monos aotus hay varias subespecies, y cada una ha sido diferenciada por el número de cromosomas. La identificación y comparación de especies o subespecies ayudan a planear con exactitud los programas de cruzamiento.

La mitosis, es la forma más común de división de las células somáticas (células no sexuales). Consiste primero en la replicación por la cual el número de cromosomas de las células aumenta de  $2N$  a  $4N$ . Las células se dividen en dos células hijas, cada una teniendo cromosomas  $2N$ . La meiosis, es el proceso por el cual el espermatozoide y el óvulo adquieren sólo  $1N$  número de cromosomas. En la fertilización la unión de los gametos masculino y femenino producen una única célula  $2N$  la cual llega a desarrollar un embrión.

En el caso de una eventual falla en la división celular durante la mitosis ó la meiosis pueden resultar en un cambio en el número de cromosomas en la célula. Si este ocurre durante la formación de gametos los resultados pueden ser devastadores porque las células en desarrollo del individuo serán anormales. Los cromosomas básicamente consisten en un arreglo lineal de los genes. La ausencia o adición de un cromosoma o parte de un cromosoma pueden resultar en anomalías, que pueden ir desde la pérdida de genes o las células pueden tener copias extras de los genes. El síndrome de Down puede resultar de la presencia de un cromosoma extra en los 46 cromosomas completos, específicamente hay tres cromosomas 21 en vez de dos. La gente afectada por el síndrome de Down muestra un grupo de síntomas, incluyendo retraso mental, defectos cardíacos y otras anomalías.

Aplicando programas especiales de cruzamiento diseñados para alterar el número normal de cromosomas, los científicos han desarrollado un ratón que tiene un cromosoma 16 extra, la mayoría de los genes presentes en el cromosoma número 21 se han localizado en el ratón en el cromosoma 16. La mayoría de éstos ratones tienen defectos en el corazón y comunmente mueren después de nacer.



### Cromosomas Sexuales

Los cromosomas sexuales son un par especial de cromosomas, así llamados porque esos genes determinan el sexo del animal en que se localizan. El resto de los cromosomas, o cromosomas no sexuales se denominan autosomas. Las hembras de la mayoría de los animales de laboratorio tienen cromosomas "X". Los machos tienen un cromosoma "X" y uno "Y", así llamados por su forma al observarlos al microscopio. Los machos pueden producir "X" y "Y", presentes en el espermatozoide por el proceso de meiosis, de esta manera los gametos masculinos determinan el sexo del producto. Los cromosomas de las aves presentan diferencias, los machos tienen dos cromosomas "Z" y las hembras tienen un cromosoma "Z" y otro "W", así los gametos femeninos determinan el sexo del producto. En el reino animal también hay otros esquemas que determinan el sexo pero son raramente observados.

### Herencia Ligada al Sexo

Ciertos rasgos son ligados al sexo, o ligados a "X" porque los genes ligados a ciertas características se encuentran en el cromosoma "X" (aunque algunos genes se encuentran en el cromosoma "Y"). La hemofilia, es un desorden sanguíneo causado por un gen recesivo ligado al cromosoma "X". Esta enfermedad ha sido identificada en varias razas de perros así como en humanos. Una hembra hemofílica puede ser heterocigótica para esta característica y puede no mostrar la enfermedad, ella tiene dos cromosomas "X", uno de los cuales proviene de su padre. La hembra hemofílica pasa el gen de la hemofilia al 50% de su descendencia, de la cual aproximadamente la mitad serán machos. La descendencia macho que reciba el gen de la hemofilia tendrá la enfermedad, ya que ellos solo tienen un cromosoma "X" y no pueden ser heterocigóticos para esta característica (fig. 6.1).

		Posibles gametos femeninos	
		"X" con gen normal	"X" con gen "h"
	gen "+"		
		<hr/>	<hr/>
Macho posible X(+)		X(+)/X(+)	X(+)/X(h)
Gametos	Y	Y/X(h)	Y/X(h)

Figura 6.1. Una hembra fenotípicamente normal portadora del gen recesivo de la hemofilia (h) cruzada con un macho normal puede producir machos normales Y/X(+), machos afectados Y/X(h) y hembras normales X(+)/X(+), y X(+)/X(h) la mitad de las cuales son portadoras.

### **Influencias Ambientales**

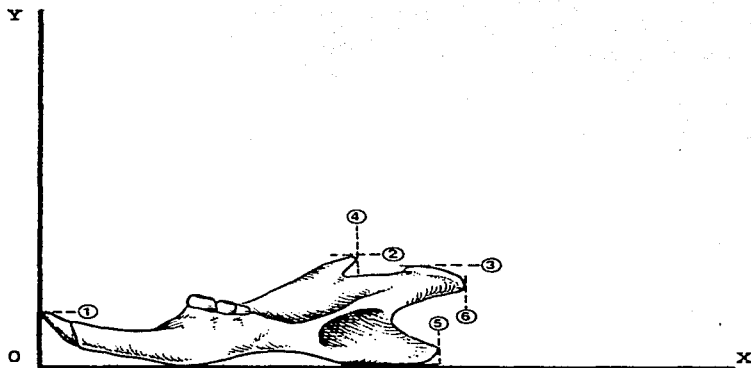
Variaciones en características entre individuos pueden deberse a causas no genéticas, como genéticas. Características bajo control genético pueden modificarse o inhibirse completamente por factores ambientales. Por ejemplo pueden ser inhibidas por temperatura, humedad, pH, contenido mineral, nutrición o radiación UV natural. La acción o manifestación también puede inhibirse o modificarse por la presencia o acción de otros genes asociados con o unidos al mismo gen, material genético unido o rodeando al gen es también parte del ambiente que rodea al gen.

### **Control Genético**

El valor de las cepas consanguíneas para la investigación científica depende de la pureza genética. El manejo adecuado de las colonias es la mejor medida para evitar la contaminación genética. Los técnicos y tecnólogos deben tomar en cuenta la importancia de evitar el cruzamiento erróneo y deben tomar en cuenta todas las medidas para evitar la contaminación genética. Por ejemplo, las jaulas deben cerrar perfectamente y las líneas diferentes del mismo color no deben de mantenerse dentro del mismo cuarto. Todo animal que ha escapado debe ser recapturado y sacrificado con eutanasia, además la información necesaria debe encontrarse en tarjetas en las jaulas, así como otros datos y algunas diferencias en color de pelo, tamaño de la camada y otras características poco comunes o inesperadas deben de notificarse inmediatamente.

Existen varios métodos de laboratorio para detectar contaminación genética en colonias de animales. Algunas de esas pruebas consisten en examinar proteínas que los animales producen, las cuales son diferentes entre líneas. El monitoreo de esos marcadores bioquímicos por electroforésis es un procedimiento en el cual las sustancias son separadas por cargas eléctricas. Esto es una práctica común en bioterios que usan cepas de ratones genéticamente puras. Esta técnica puede usarse para cualquier otra especie.

Otra técnica de monitoreo genético consiste en la realización de injertos de piel para identificar diferencias genéticas. Ciertas proteínas del tejido trasplantado desencadenan en el receptor la respuesta inmune que produce el rechazo del injerto lo que ocasiona la destrucción el tejido. El tamaño y la forma de los huesos son relativamente constantes para todos los animales de la misma especie, cepa, sexo y peso; diferencias en los huesos de la mandíbula pueden indicar contaminación genética (fig. 6.2). El más simple método de monitoreo genético consiste en el monitoreo del color del pelo. La descendencia de dos ratones blancos de la misma cepa, por ejemplo, nunca debe ser negra o blanca (no pigmentada), esto solo manifiesta una condición de homocigosis recesiva.



**Figura 6.2.** Diagrama de la rama derecha de la mandíbula de un ratón, donde se encuentran algunas de las 11 medidas estándar usadas para evaluar la forma de la mandíbula como un intento de control en una colonia de ratones genéticamente puros. Las medidas marcadas están en milímetros en el eje "y" para los puntos anatómicos 1, 2 y 3. Las medidas en el eje "x" para los puntos 4, 5 y 6. (Adaptado de: Festing, M. ICLAS Manual for Genetic Monitoring of Inbred Mice.)

### **Animales Transgénicos**

Ahora la tecnología es capaz de realizar bioquímicamente la síntesis de genes específicos de una cepa ó especie y la posible inyección de éstos a células de otras especies. La inyección de DNA es hecha invitro a un huevo maduro que luego es fertilizado. El huevo es después colocado en el útero de una hembra pseudopreñada para continuar su desarrollo. La pseudogestación es inducida por la introducción de hembras con machos vasectomizados. La aplicabilidad de éste procedimiento fué establecida por un experimento, en el que se dió la producción de genes para hormonas de rata y el posterior crecimiento mayor en comparación con otra cepa de animales que no recibieron el material genético obtenido. Desde ese experimento inicial otros numerosos genes han sido implantados produciendo modelos animales únicos, para la investigación.

### **REPRODUCCION Y CRUZAMIENTO.**

Existen numerosas técnicas para el manejo de espermatozoides, huevos y embriones, las cuales pueden realizarse y aumentar la realización de numerosos programas de cruce y proyectos de investigación.

### **Colección de Semen**

La electroeyaculación, es una técnica usada por investigadores y criadores para coleccionar semen, con el fin de evaluar la capacidad reproductiva del animal. Esta también se usa para coleccionar semen para inseminación artificial y fertilización in-vitro. Esta técnica se realiza usando una sonda rectal y un transformador eléctrico, ambos estan disponibles en diferentes tamaños y se les selecciona de acuerdo con la especie a la que se le va a coleccionar el semen. Para preparar animales grandes como el ganado, las heces son removidas para vaciar el recto, manualmente ó lavando con solución salina. Después la sonda es lubricada con gel y es insertada en el recto del animal hasta llegar al nervio asociado con la erección y la eyeculación. La posición de la sonda es importante. Puede ser necesaria la inmovilización química ó mecánica del animal.

El control del autotransformador se hace rotando, aplicando y retirando rítmicamente la corriente eléctrica. El voltaje debe ser retirado cuando el macho respire fuertemente. El macho mostrará signos de erección y contracción de los músculos. Las pulsaciones rítmicas deben seguir hasta que el macho eyacule.

La buena comunicación entre el operador de la sonda y el colector del semen es importante para obtener una buena cantidad de eyaculado. La producción de orina indica que la sonda ha sido introducida muy profunda en el recto. Usando también mucho voltaje o poco voltaje por largo tiempo puede haber irritación rectal. Si ésto ocurre el procedimiento debe interrumpirse inmediatamente y de ser necesario el animal debe observarse antes de repetir el procedimiento.

Después de 48 horas de realizar el procedimiento, todos los animales electroeyaculados deben ser observados para detectar sangre en las heces.

En la colección del semen la salida de éste puede interrumpirse por la presencia de un coágulo (una fracción de semen solidificado) en la uretra. Tal bloqueo puede ser removido por "ordeñamiento" del pene.

Es necesario tener precauciones especiales para evitar la contaminación bacteriana del semen. El grado de contaminación bacteriana puede ser reducido significativamente cortando el pelo de los genitales y lavando el pene con desinfectante quirúrgico. Como precaución, el aparato colector debe ser estéril y calentado a 37°C.

Las vaginas artificiales se encuentran comercialmente o pueden hacerse con materiales como tubos de plástico para centrifugas o tubos elásticos de neopreno, los cuales se encuentran en la mayoría de los laboratorios. Tal instrumento consiste en un tubo de tamaño apropiado con un reservorio al final. El tubo contiene agua y una cubierta dentro de la cuál es introducido el pene. Para un adecuado estímulo del macho, la vagina artificial debe estar caliente y lubricada con gel. En algunas especies como caballos y conejos, el macho debe montar a la hembra para ser estimulado a eyacular. Para usar la vagina artificial en algunos animales, el técnico debe guiar el pene dentro del aparato y mantenerlo firmemente; otros animales como los monos requieren de un contacto menos firme.

En la mayoría de los animales de laboratorio los espermatozoides pueden ser obtenidos directamente de los órganos reproductores. En algunos casos el animal debe ser sacrificado con un método eutanásico para extraer el tracto reproductor, el esperma es obtenido por incisión del epidídimo y el conducto deferente.

#### **Evaluación del Semen**

El semen eyaculado en forma natural, está formado por tres fracciones: Un fluido claro, el cual es libre de espermatozoides; la fracción que contiene los espermatozoides; y los fluidos prostáticos. Para evaluar el semen por conteo de espermatozoides y motilidad, las fracciones deben ser mezcladas. La mezcla es diluida en una solución salina conocida de fosfatos amortiguados, esto debe hacerse cuidadosamente para evitar el choque de los espermatozoides con la vibración o cambios de temperatura excesivos. En la mayoría de los casos la hembra es inseminada con el volumen entero colectado inmediatamente ó haciendo alguna dilución. Si el semen va a ser enviado a otro lugar, se le debe diluir en un medio nutritivo o de mantenimiento.

#### **Inseminación Artificial**

Los animales pueden ser inseminados por procedimientos quirúrgicos en los cuales los espermatozoides son directamente insertados dentro del oviducto o dentro del útero.

Haciendo una laparotomía (asépticamente), usando una aguja y una sonda, el semen diluido en solución salina es introducido en el extremo craneal del oviducto, tanto dentro de los oviductos, o en puntos más lejanos dentro de los cuernos uterinos. En grandes especies el esperma puede ser introducido por medio de una laparoscopia, haciendo una incisión más larga que en la laparotomía.

El método más común de inseminación es el no quirúrgico. Una hembra ovulando es preparada para éste procedimiento, lavando el área genital con un desinfectante quirúrgico. Usando una sonda el semen es aspirado dentro de un plástico ó tubo de plástico. El tubo es insertado profundamente en la vagina o en el cérvix y el semen es depositado lenta y gentilmente. Elevando los cuartos posteriores de la hembra durante ó inmediatamente después del procedimiento facilita el movimiento del semen a lo más profundo del tracto.

El momento de la ovulación puede controlarse inyectando a la hembra una combinación de gonadotropinas ó en algunas especies por estimulación mecánica de la región vulvo-vaginal.

#### **Fertilización Invitro**

La fertilización invitro es un procedimiento en el cual un óvulo puede ser fertilizado fuera del cuerpo del animal y el cigoto resultante es implantado en el útero de una hembra. Para realizarla el óvulo y el esperma son colectados por métodos convencionales y colocados en una caja de petri ó tubo de ensaye, aquí es donde ocurre la fertilización. El contenedor es colocado en el medio incubador cuidadosamente controlado, donde el óvulo fertilizado, ahora llamado cigoto, comenzará varias divisiones. En el estado multicelular temprano el embrión en desarrollo es removido del contenedor e implantado dentro del útero de la donadora del óvulo o de la madre adoptiva.

#### **Colección del Embrión**

Usando una técnica estéril, los huevos fertilizados en estados tempranos pueden ser colectados por remoción quirúrgica de ovarios y oviductos de animales anestesiados o sacrificados por un método eutanásico. El oviducto es removido, extraído por disección y lavado con solución salina fisiológica para remover los embriones. Los embriones son obtenidos de la solución salina y son identificados. El estado de desarrollo del embrión al ser colectado, varía de acuerdo con la fisiología reproductiva de las especies, la necesidad técnica y la localización dentro del sistema reproductivo del cual son colectados. Los embriones en estados avanzados de desarrollo, como blástulas o gástrulas, pueden ser colectados del útero por una técnica similar a la usada para colectarlos del oviducto, pero deben colectarse antes de que se implanten.

#### **Almacenamiento de Gametos y Embriones**

Semen, huevos y embriones en estados tempranos de desarrollo pueden congelarse por mucho tiempo. Para preparar las células para su congelación, se les debe mezclar con una solución que contenga

un crioprotector, una fuente de energía y antibióticos. La solución que contiene a las células es enfriada lentamente hasta su congelación. Las células son mantenidas en nitrógeno líquido, este método facilita el uso de cepas rara vez usadas, así como su transporte de un lugar a otro. Esto nos permite controlar y eliminar algunas células infecciosas. La criopreservación también proporciona un importante apoyo en caso de alguna enfermedad o algún desastre natural como huracanes o incendios. Además, la conservación de gametos y embriones puede eliminar la variación genética normal causada por mutaciones espontáneas, lo cual comúnmente puede ocurrir en colonias convencionales de animales mantenidos por muchas generaciones.

#### PROGRAMAS DE CRUZAMIENTO PARA RATONES.

Los sistemas de cruzamiento ayudan a los criadores a preservar características genéticas y controlar las causas genéticas de variabilidad de esas características. Esto nos da como resultado animales uniformes que son los que se requieren para la investigación científica.

Los criadores comercian con dos tipos de variables: la variable no genética, la cual incluye temperatura, humedad, cambios estacionales, habilidad para alimentar y otros factores ambientales; y la variable genética la cual es resultado de la interacción de genes.

Los registros de cruce para animales, deben incluir un registro de los alelos conocidos portados por los padres y la camada. Un gen mutante recesivo es denotado por un símbolo en el cual la primera letra es minúscula, por ejemplo, se (orejas cortas) por short ear. Un alelo mutante dominante, el cual afecta usual y visiblemente al heterocigoto, es representado por un símbolo en el cual la primera letra es mayúscula, por ejemplo, Re (rex). Un tipo normal o natural de alelo es representado por un signo "+". Suponiendo por ejemplo, que la letra minúscula "a" que denota un gen mutante recesivo, si los alelos de un grupo de animales en particular son normales y mutantes recesivos, debe haber tres genotipos: +/+, el cual es homocigótico normal; a/a, el cual es homocigótico recesivo mutante y +/a, el cual es heterocigótico.

En el ejemplo anterior, la unión de homocigotos similares tales como: +/+ x +/+ ó a/a x a/a, es llamada incrossing (introcruza).

El cruzamiento de diferentes homocigotos como +/+ x a/a, es llamado crossing (cruza). Backcrossin (introcruza), es la unión de un homocigoto con un heterocigoto; por ejemplo, +/+ x a/+ ó a/a x a/+. Un intercrossin (interoma), es la unión de dos heterocigotos como a/+ x a/+. Por diseño, algunos sistemas de cruce guardan una población al azar. Esto es para prevenir la consanguinidad. También por diseño otros incrementan la homocigosis, hasta disminuir la variabilidad.

Cuando el grado de heterocigosis en una población, o colonia, llega a cero, quiere decir que todos los miembros de la población son homocigóticos, y se le llama cepa isogénica.

Si dos cruzamientos individuales ó cepas son homocigotos para todos los sitios, excepto para la primera la cual es conocida por ser diferente, los animales mutantes o no mutantes son llamados coisogénicos o congénicos. Los animales coisogénicos o congénicos se desarrollan cuando ocurren mutaciones espontáneas y son identificadas dentro de un alelo dado o en una cepa cruzada. En contraste, los animales congénicos son desarrollados por el uso de un esquema específico de cruzamiento, en el que el gen de interés es introducido dentro de un cruzamiento final. Dos Términos que los criadores comunmente usan para describir, características o rasgos que muestran los múltiples factores de la herencia son: genes mayor y menor. Estos términos denotan el efecto de los genes en el fenotipo, que es donde hay mayor o menor efecto.

En una población natural, hay normalmente un gran nivel de heterocigosis. El cruzamiento como tal, tiende a conducir la heterocigosis en la subsecuente generación de cruzamientos, los miembros de la población son más homocigóticos y por lo tanto más uniformes genéticamente. El grado de incremento de la homocigosis depende de lo cerrado o de las relaciones entre los animales cruzados. Este índice es expresado por los términos de coeficientes de cruce. El coeficiente de cruce mide el porcentaje de reducción en el número de loci heterocigóticos durante la cruce.

Para desarrollar una cepa consanguínea lo mejor es usar el método de cruzamiento de hermano con la hermana, o método de cruzamiento estrecho. Esto debe de continuar por veinte generaciones consecutivas para que la cepa sea clasificada como consanguínea. Si es necesaria la cruce del padre con la camada, puede sustituir la cruce de hermanas con hermanos y los resultados serán los mismos. Aunque la homocigosis se incrementa conforme la consanguinidad aumenta, las líneas derivadas de una misma población cruzada finalmente al azar, no necesariamente son idénticas, ya que las líneas puede ser homocigóticas para diferentes genes. La variación en la herencia de genes entre líneas es inevitable en una población pequeña. Esta variación es conocida como deriva, génica o efecto de la cruce consanguínea. Por consiguiente a pesar de que las líneas consanguíneas provenientes de la misma estirpe fundadora son más o menos homocigóticas, cada una de las líneas resultantes pueden tener diferentes características fenotípicas ó genotípicas. Si estas líneas son mantenidas sin que se mezclen, son llamadas subcepas más que sublíneas.

En contraste a las cepas consanguíneas, el mantenimiento de los cepas exogámicas o no consanguíneas, requieren de evitar el cruzamiento estrecho o minimizar la homocigosis, lo cual puede lograrse por la aplicación de un esquema de cruzamiento al azar. En teoría, el cruzamiento al azar es el mejor para aplicarse a poblaciones grandes. En poblaciones pequeñas, incluyendo las mantenidas por criadores comerciales, los resultados del cruzamiento al azar son un poco diferentes a las expectativas teóricas.



**Tabla 6.2 Sistema de consanguinidad mínima de Robertson.\*  
Cruzas por Número de Unidad Reproductiva.**

<b>Machos</b>	<b>Hembras</b>	<b>Siguiente Generación</b>
1	2	1
3	4	2
5	6	3
7	8	4
9	10	5
11	12	6
13	14	7
15	16	8
2	1	9
4	3	10
6	5	11
8	7	12
10	9	13
12	11	14
14	13	15
16	15	16

\* El sistema presentado está limitado a 16 unidades de cruce, pero el sistema Robertson puede ser usado para cualquier número de unidad de cruce, siempre y cuando el número sea múltiplo de 2; ejemplo 2 a la quinta potencia= 32.

Esto es por que el tamaño de una población pequeña introduce patrones aunque se utilice una tabla de números aleatorios para elegir los apareamientos.

Ciertos sistemas de cruzamiento pueden minimizar las perdidas de heterocigosis, aun en poblaciones pequeñas. Estos son llamados sistemas de apareamiento circular. En el Sistema Robertson (tabla 6.2) un animal procedente de una unidad de apareamiento con un número impar es siempre apareado con un animal procedente de una unidad de apareamiento con un número par. A Cada nueva unidad de cruza (su descendencia) le es dado uno nuevo número impar o par el cual es arbitrariamente especificado por el sistema.

Hay una modificación práctica del Sistema Robertson, el cual usa el número del apareamiento unitario solo como identificación. Esta modificación requiere que, además del número de identificación, a todas las unidades de apareamiento le son asignadas uno o dos nombres de un código tales como blanco o negro. El nombre del nuevo apareamiento debe ser el mismo que el de los padres, negro siempre es apareado con blanco. Solo un animal de una camada cualquiera puede ser usado para apareamiento y cada unidad de apareamiento debe proporcionar un macho y una hembra para el banco de reemplazos. Estos puntos pueden programarse en el sistema, designando la primera y cuarta camada como animales de los cuales se obtendrán los reemplazos. Conforme los animales envejecen se presentan fallas reproductivas que causan reducción en el número de unidades de apareamiento, pero seleccionando un mayor número de animales, el número de unidades en apareamiento puede mantenerse en los rangos deseados. Para complementar esto, un animal extra por camada es seleccionado de otra camada, además de los de la primera y cuarta parición, según sea necesario. Así si la eficiencia reproductiva de la colonia decaese, el número de "ratones extra" necesita aumentar.

#### **FISIOLOGIA REPRODUCTIVA EN RATAS Y RATONES.**

El precursor de la vagina en ratas y ratones hembras, es un cordón de células que carecen de lumen, cuando la cría alcanza la pubertad, el cordón de células se desarrolla como un tubo cerrado distalmente por una membrana delgada. La ruptura de ésta membrana, lo cuál ocurre poco antes de la ovulación, indica que el animal es sexualmente maduro.

La madurez sexual ocurre en la rata hembra entre los 37 y 67 días de edad y en la ratona entre los 28 y 42 días de edad. Los machos de ambas especies alcanzan la madurez sexual un poco más tarde que las hembras.

La mejor edad para la primer cruza en las ratas es entre los 72 y 90 días de edad, y en ratones de los 42 a 56 días de edad. Ambas especies son poliesticas, con un ciclo estral de 4 a 6 días (en promedio 4.5 días).

Las etapas del ciclo estral concuerdan con un patron celular que se puede observar en los frotis vaginales, para ratas y ratones ver la tabla 6.3. Los frotis vaginales se utilizan para evaluar las etapas del ciclo estral en los programas de cruce o para protocolos de investigación.

**Tabla 6.3.** Etapas del ciclo estral identificadas por tipos de células encontradas en frotis vaginales.

Etapas	Tiempo en horas		Células en frotis vaginales
	Rata	Raton	
I ó proestro	12-13	31	Células epiteliales, leucocitos y células cornificadas.
II ó estro	DND	21	Células epiteliales y células cornificadas.
III ó metaestro-1	27	DND	Sólo células cornificadas.
IV ó metaestro-2	6	22	Células epiteliales leucocitos y células cornificadas.
V ó diestro	57	22	Células epiteliales y leucocitos presentes en moco.

DND: Dato no disponible

## CAPITULO SIETE

### ANIMALES DE LABORATORIO USADOS CON POCA FRECUENCIA

Además de algunas variedades de animales de laboratorio comunmente usados y mencionados en la sección I de este manual de entrenamiento, hay otros tipos de animales usados ocasionalmente en el laboratorio por tener un valor único como modelo de estudio en enfermedades muy particulares.

Los animales más importantes dentro de este tema, se encuentran en el presente capítulo. La tabla 7.1 nos proporciona un resumen con datos disponibles de anatomía y fisiología de la mayoría de los animales a tratar.

#### ARMADILLOS

El armadillo de nueve bandas (Dasypus novemcinctus) es de interés para las investigaciones biomédicas, por que fué el primer modelo animal inalterado, capaz de desarrollar la forma franca y clara de la lepra.

Algunas características importantes del armadillo son: Su primitiva respuesta inmune, su habilidad para producir cuatro crías idénticas a partir de un sólo óvulo fecundado, su baja temperatura corporal (de 27°C a 36°C), su habilidad para disminuir su consumo de oxígeno y su tendencia a desarrollar un caparazón en bandas por mutación. (ver datos fisiológicos y morfológicos en la tabla 7.1). Una diferencia única del armadillo, es la articulación extra que hay entre algunas de sus vertebras. El armadillo es el único mamífero de Norte América que está armado por una cubierta de placas duras, estas placas cubren la cabeza, el cuerpo y la cola. El pelo que tiene esparcido en el cuerpo es café, canela y algunas veces amarillento.

Después de la aclimatización de los armadillos a las condiciones del laboratorio, rara vez contraen infecciones. Sin embargo algunas infecciones localizadas pueden ocurrir en la cola y en las garras. La debridación del tejido, la cauterización de la lesión y la terapia con antibióticos por vía tópica y parenteral produce una respuesta satisfactoria. Si la infección continúa, la amputación del punto de infección quizás sea necesaria. Las infecciones bajo el caparazón son difíciles de detectar hasta que se desarrollan úlceras. El área afectada debe ser abierta y drenada diariamente. La aplicación tópica de antibióticos, antimicóticos o antiinflamatorios puede ser efectiva. Además, se le deben aplicar diariamente inyecciones intramusculares con antibióticos de amplio espectro, aplicar en la pata trasera hasta que la lesión cicatrice.

#### Cuidados

Los armadillos se deben mantener alojados individualmente en jaulas para gato o perro, en grupos de cinco o menos en corrales grandes o perreras.

Dentro de las jaulas el grosor de la cama debe ser de 8 cm. Esto ayuda a prevenir la deformación de las patas cuando los animales son alojados en jaulas con pisos de concreto o duros. Si los animales son alojados en jaulas con pisos de tierra, se debe instalar una barrera debajo de la tierra para evitar que los animales escarben. Las cercas de agua o fosos no evitan que los animales escapen, ya que ellos tienen la habilidad para nadar y permanecer hasta 10 minutos bajo el agua. Además pueden nadar distancias cortas tragando aire con lo cual inflan su estómago e intestinos para tener una reserva extra.

La temperatura óptima de la sala debe ser de 25°C a 30°C y la humedad re relativa debe ser de entre el 40% y 60%. Los animales deben tener en promedio un ciclo de 12 Hrs. de día/noche. Ellos necesitan un medio ambiente tranquilo, por lo que los animales deben colocarse en un área con un mínimo de ruido y de tráfico. Los armadillos pueden ser identificados con marcas en las orejas, etiquetas en ellas, o aplicando pintura epóxica en sus caparazones.

Tabla 7.1 Datos morfológicos y fisiológicos.					
	Armadillo	Chinchilla	Hurónes	Zarigüeyas	Marmota
Temperatura corporal °C	32-35	36.1-37.8	37.8-40	32.2-35	15
Frecuencia cardiaca latidos/min.	70-100	100	216-242	140-220	180-264
Frecuencia respiratoria resp/min.	DND	45-65	33-36	35-36	DND
Adulto peso corporal macho (kg.)	3.5	.40-.50	1.35-2.70	1.8-6.5	2.0-6.4
Adulto peso corporal Hembra (kg.)	3.5	.40-.60	.45-90	1.8-6.5	2.0-6.4
Consumo de agua (ml.)	DND	65-130	75-100	100-150	DND
Consumo de alimento (grs.)	DND	10-15	140-196	180	DND
Sistema apareamiento	mono-gámico	monogámico	monogámico	DND	monogámico
Período de gestación (días)	210-260	105-128	41-43	12-13	31-43
Tamaño de camada	4	1-6	6-7	1-8	4-5
Camadas por año	DND	2	DND	2-3	1
Peso al nacer (grs.)	DND	35	10	<1	45

(cont.)	Armadillo	Chinchilla	Hurones	Zarigüeyas	Marmota
Edad al destete (semanas)	6	6-8	5-7	12	5
Madurez sex. (meses)	12+	8-18	DND	12	12+
Período de vida (años)	4-6	10+	DND	7	4-5
<b>DND= Dato no disponible.</b>					

### **Alimentación**

En la naturaleza los armadillos se alimentan de insectos, vegetales, hormigas y otros invertebrados pequeños. También comen cangrejos, anfibios, huevos de aves y reptiles, y carroña.

En cautiverio la dieta adecuada incluye carne picada, leche y huevos. Deben tener agua fresca "ad libitum" en recipientes de acero inoxidable, ya que los animales pueden lesionarse rompiendo los recipientes de plástico y vidrio.

Un armadillo recién capturado puede acostumbrarse a la dieta de laboratorio si solo se le dá agua los primeros días. También se le puede ofrecer una mezcla que consista en 1 1/2 tazas de agua, 1/2 taza de leche, 3 huevos duros, 3 platanos, 3 tabletas de suplemento vitamínico. Además el suplemento vitamínico debe agregarse a la comida tres veces a la semana.

### **Manejo y Sujeción**

Para trasladar un armadillo, este debe ser tomado por el lado del caparazón o de la base de la cola. Usualmente no muerden, pero tienen poderosas patas y garras que pueden causar lesiones, para prevenir accidentes deben usarse guantes de piel gruesos.

### **Sexaje y Reproducción.**

El macho tiene un pene que es evidente, con glandulas anales bién desarrolladas y testículos abdominales localizados en el canal inguinal. La hembra tiene una hendidura que llega hasta el seno urogenital.

Un solo óvulo fertilizado se divide para formar cuatro huevos iguales. La hembra tiene una camada al año. Los recién nacidos se encuentran bién desarrollados al nacimiento. Nacen con los ojos abiertos y con la habilidad de caminar a las pocas horas. Los juvenes tienen una piel suave que se va volviendo dura lentamente.

### **Técnicas de Laboratorio**

La técnica más común de sangrado en un armadillo es por punción cardiaca, para lo cual deben ser anestesiados con pentobarbital I.V. o I.P. a dosis de 25 a 35 mg/kg de peso corporal, o ketamina I.M. a dosis de 25mg/kg de peso corporal. La anestesia inhalada es efectiva, pero puede ser difícil de administrar ya que los armadillos tienen la habilidad de interrumpir la respiración.

### **MURCIELAGOS**

Los murciélagos pertenecen al orden Crióptera, los cuales son llamados "manos voladoras". El orden Crióptera se divide en dos subordenes: Megacrioptera, la cual incluye a los murciélagos vegetarianos del viejo mundo (más comunmente llamados murciélagos de la fruta); y Microcrióptera, los cuales son insectívoros, y son los murciélagos del nuevo mundo. Hay 39 especies conocidas en Norte América. Son los únicos mamíferos voladores verdaderos. Los murciélagos habitan la mayoría de los lugares con clima tropical. Son los únicos mamíferos más abundantes después de los roedores.



Los murciélagos han sido mantenidos en cautiverio para estudios de ecología, termorregulación, menstruación, epidemiología de la rabia y otras enfermedades. La delgada membrana del ala es ideal para el estudio de la circulación sanguínea y cicatrización.

Los murciélagos pueden tener una gran variedad de parásitos. Los parásitos externos más comunes son: pulgas, chinches, larvas de mosca, helmintos y garrapatas. Otros ectoparásitos como los mosquitos juegan un papel importante como transmisores de microbios sanguíneos, virus, rickettsias y protozoarios. La mayoría de los ectoparásitos pueden ser eliminados aplicando polvos con piretroides.

Las alas de los animales cautivos pueden desarrollar lesiones en la piel, inflamación de las articulaciones y extensas áreas alopécicas; lo cual es signo de una dieta inadecuada. Estas condiciones pueden prevenirse con una dieta adecuada, espacio para el ejercicio y controlando la humedad del alojamiento.

Hay varias enfermedades que los murciélagos transmiten al humano, como la enfermedad de Chagas que puede ser transmitida de murciélagos afectados de regiones tropicales por ectoparásitos. La histoplasmosis y la dermatomicosis pueden ser transmitidas a través de la orina y las heces. Los manejadores deben usar cubrebocas para evitar la inhalación de éstas partículas.

El peligro más grande para los manejadores son las mordeduras por murciélagos con rabia. Un murciélago infectado de rabia comúnmente deja de volar, deja de comer, se aleja de los otros animales, tienen temblores en las alas y éstas se encuentran parcialmente abiertas. Pueden morir en posición colgante o pueden caer y morir. Si los murciélagos manejados hieren al manejador, éste debe reportarlo inmediatamente y usar guantes.

Se deben tomar cuidados extremos con los animales recién llegados y con los posiblemente enfermos. Previo al inicio de cualquier programa de investigación en los que se utilicen murciélagos, todo el personal que vaya a estar en contacto con estos animales deberá recibir las vacunas adecuadas.

### **Cuidados**

Los murciélagos se deben mantener en jaulas de plástico duro ó de acero de aproximadamente 80x92x138cm. con pisos sólidos, éstas jaulas son adecuadas para pequeños murciélagos frutívoros o insectívoros, en éstas jaulas se puede mantener grupos de 15 a 20 animales. Todas las uniones y puertas de las jaulas deben de ser muy estrechas ya que los murciélagos pueden pasar por aberturas muy pequeñas. La jaula debe contener una caja de descanso de aproximadamente 80x92x51cm. La entrada debe ser aproximadamente de 25x15cm. Las jaulas deben localizarse donde se pueda evitar el ruido externo, como los murciélagos vuelan usando la ecolocación, se deben evitar ruidos y objetos reflejantes que pueden interferir con el sistema navegacional. Los animales confinados deben hacer ejercicio diariamente en jaulas de vuelo.

Los murciélagos de la fruta producen heces blandas, por lo que es necesario cubrir el piso de la jaula con viruta y cambiarla

diariamente. Los murciélagos insectívoros producen heces duras, por lo que colocar papel en el piso de la jaula es lo adecuado para estas especies.

La temperatura óptima y la humedad no están establecidas. Su temperatura rectal, pulso cardiaco y ritmo respiratorio fluctúan con el ambiente, por lo que se pueden adaptar sólo a un pequeño cambio climático ya que pueden entrar en estado de hibernación. La iluminación debe ser de 13hrs. luz y 11hrs. de oscuridad. Los murciélagos pueden identificarse individualmente con el uso de marcas o broches en la parte de los hombros o en la membrana de las alas.

#### **Alimentación**

La alimentación varían grandemente entre las especies, entendiéndose su biología y los hábitos de cada una. La mayoría de los murciélagos insectívoros pueden mantenerse con una dieta a base de gusanos (Tenebrio larvae) los cuales pueden criarse fácilmente. Un apropiado número de gusanos (dependiendo del tamaño del murciélago) deben servir de alimento diariamente con un complemento vitamínico una vez a la semana. Los gusanos vivos deben de colocarse en platos dentro de la jaula. La mayoría de los murciélagos se sobrealimentan si tienen la oportunidad. Es difícil que los animales que ocupan el mismo lugar consuman igual cantidad de alimento. La sobrealimentación se puede evitar dando porciones individuales en platos separados y colocando a los murciélagos en los platos. Después de que han comido el primer gusano seguirán consumiéndolos.

El agua de bebida debe proporcionarse en platos poco profundos para todas las especies.

Los murciélagos de la fruta prefieren frutas dulces como bananas, mangos, peras y melones, así como naranjas y uvas. La fruta debe darse como una ensalada bien mezclada, en platos que se colocan en el piso de la jaula. Un complemento vitamínico debe ser adicionado una vez a la semana.

Los murciélagos vampiro se alimentan exclusivamente de sangre de mamíferos y aves. Estos animales pueden mantenerse fácilmente en cautiverio alimentándolos con sangre desfibrinada, a la cual se le extrae la fibrina por métodos químicos. Aprenden a tomar la sangre de tubos de bebida.

#### **Manejo y Sujeción**

Los murciélagos en jaulas grandes o libres en salones pueden ser atrapados con redes. Siempre deben de manejarse con guantes de gamuza. Los murciélagos se quedan quietos al atraparlos con guantes. Los animales más excitados requieren de una manipulación especial que consiste en colocar el dedo índice en la espalda sujetando los brazos hacia la espalda. Este método solo debe usarse en ciertas circunstancias, como con animales jóvenes o pequeños. Se pueden usar forceps para manejar murciélagos medianos y pequeños.

#### **Sexado y Reproducción**

El sexo puede determinarse observando la distancia urogenital,

la cual es más grande en el macho que en la hembra. Los murciélagos se aparean en otoño. En las especies hibernantes la hembra almacena el esperma en su cuerpo, dándose la fertilización hasta que termina la hibernación en la primavera. La ovulación ocurre en todas las hembras de la colonia, y el parto se da casi en todas al mismo tiempo. La mayoría solo tienen un parto y por lo tanto una sola generación; la cual nace con los miembros posteriores por delante (ésta presentación probablemente es única en los mamíferos). La edad del destete es a las tres ó seis semanas. Algunas especies viven por 20 años o más.

#### **Técnicas de Laboratorio**

Los lugares de sangrado en los murciélagos son; el corazón y la vena yugular. Los murciélagos se pueden tranquilizar con acetilpromacina en dosis de 1.mg/kg. de peso corporal por vía IM. También se pueden anestesiar utilizando pentobarbital sódico en dosis de 30 a 50 mg./kg. por vía IP. Una sobredosis de anestésicos o barbitúricos inhalados o inyectados, pueden usarse como método de eutanasia.

#### **CHINCHILLAS**

La chinchilla es un pequeño roedor que pertenece al suborden Hystriocomorpha. Es relativamente distante al cobayo, puercoespin y el coypú. La Chinchilla laniger o chinchilla chilena es criada comercialmente por su piel. La mayoría de las investigaciones se enfrentan a problemas como mordeduras en la piel, nutrición, genética y aspectos prácticos de cruzamiento. Las chinchillas también se usan para estudiar comportamiento, fisiología auditiva y estudios de enfermedades fungales.

La chinchilla es un animal muy difícil de criar. Las fallas en las técnicas de manejo, como un inadecuado alojamiento, o una incorrecta alimentación pueden ocasionar enfermedades como infecciones por Pseudomonas a las que son susceptibles. El agua de bebida debe ser purificada o clorinada.

El bañarse en la tierra y acicalarse son parte normal del comportamiento de las chinchillas. El bañarse en la tierra puede traer como consecuencia una conjuntivitis, si esta enfermedad se desarrolla, debe retirarse el baño de tierra y aplicarse antibióticos oftálmicos diario por dos semanas. No debe usarse el antibiótico por más de dos semanas ya que los tratamientos prolongados pueden causar diarrea y muerte. Clínicamente esto parece ser debido a sobre crecimiento de bacterias gram-negativas ocasionado por tratamientos con antibióticos como ocurre en el cobayo. La tabla 7.1 proporciona varios datos morfológicos y fisiológicos de las chinchillas.

#### **Cuidados**

Los bioterios que crían chinchillas tienen una gran variedad de jaulas. Las jaulas con piso de malla son las mejores para un bioterio, ya que su limpieza es relativamente fácil, la malla debe

de ser fina para evitar que las patas de los animales se atoren. Usualmente los adultos se mantienen en jaulas individuales. Las chinchillas generalmente se cruzan usando el sistema de harém, en el cuál el macho vive separado en una jaula conectada con las jaulas individuales de las hembras. Las jaulas individuales miden aproximadamente 41x46x36cm. El macho puede entrar y salir de la jaula de la hembra pero ésta no puede salir, ya que se le coloca un collar lo suficientemente amplio que se lo impide.

El baño de tierra consiste en una mezcla de tierra de diatomeas y arena blanca. El baño debe colocarse dentro de la jaula por unas cuantas horas al día, porque de otra manera la actividad constante aumenta la cantidad de polvo en la sala.

La temperatura recomendada para las salas es de 16 a 21°C y la humedad relativa es del 40% al 60%. La sala debe tener un ciclo diario de 12 horas día/noche y debe ser relativamente en quietud. Las chinchillas pueden identificarse por tatuajes en las orejas, aretes y muescas.

#### **Alimentación**

Las chinchillas pueden alimentarse de pellets disponibles comercialmente. Estos son capsulas delgadas y largas que los animales pueden comer facilmente, los cuales pueden consumir en grandes cantidades. Debe evitarse el exceso de alimento dentro de las jaulas. Algunos especialistas en nutrición animal afirman que el heno es parte importante de la dieta pero esto no ha sido provado.

#### **Manejo y Sujeción**

Como su piel es muy delicada, requieren de cuidados extras en el manejo. Cuando los animales son atacados o asustados, liberan su pelo desde la raíz. Esto es causado por un exceso en la liberación de adrenalina en los musculos erectores del pelo, los cuales son musculos delgados que se extienden de la dermis a cada folículo e involuntariamente elevan el pelo. Estos tardan más de 5 meses para regenerar su largo original.

Una chinchilla puede ser levantada tomándola de la cola y girándola sobre el antebrazo. El animal usualmente permanece quieto; y si no es así, el animal puede morder y orinar lanzando la orina a largas distancias. Estos animales deben manejarse con cuidado ya que la mordedura es dolorosa.

Una chinchilla puede detenerse para inyectarla de la misma forma que una rata. El animal es sostenido alrededor del tórax y colocada sobre su espalda, asegurando la base de la cola entre el segundo y tercer dedo. El pulgar y el meñique son usados para sostener las patas mientras se administra la inyección.

Hay varios tipos de contenedores para las chinchillas; uno consiste en un aparato para sostener la cabeza, limitando los movimientos del animal y otro es una caja de 10 cm. de profundidad en la cual el animal es colocado de espaldas, una cubierta de 2.5 cm. de ancho es colocada sobre el tórax, cuello y patas sujetando al animal hacia un lado de la caja.

Con éstos contenedores una sola persona puede realizar todos los procedimientos de laboratorio.

### **Sexado y Reproducción**

La forma más fácil de determinar el sexo es comparando la distancia anogenital, la cual es más grande en los machos que en las hembras. Observando los testículos del macho no es una forma fácil de distinguir machos de hembras ya que estos órganos se encuentran en el canal inguinal. La papila genital de la hembra es larga, es una estructura en forma de cono siendo un vestigio del pene. En la vagina hay una membrana cerrada excepto durante el estro y el parto.

### **Técnicas de Laboratorio**

Para producir analgesia se les puede administrar ácido acetil salicílico (aspirina) oral 400mg./kg.; fenilbutazona IP. 100mg/kg., o demerol IM. 5mg/kg. Para anestestiarlos se usa pentobarbital sódico IP 35-40mg/kg., pentotal IP. 40mg/kg.; o ketamina IM. 20-30mg/kg. A estos animales se les puede practicar la eutanasia con sobredosis de anestesia inhalada, dióxido de carbono o barbitúricos.

### **HURONES**

El hurón doméstico (*Mustela putorius*) es un miembro de la familia de los mustelidos, la cual incluye mofetas, comadrejas, nutrias, tejones y minks. Los hurones han sido usados en trabajos de laboratorio desde el siglo XIX y han sido domesticados para matar ratas y cazar conejos.

Los hurones son usados como modelos en estudios que conciernen patología e inmunidad de enfermedades virales, reproducción, control de cruzamiento estacional de acuerdo con la duración del día, crecimiento y velocidad de ciclos. También son usados como modelos en investigaciones del papel de factores nutricionales, en el desarrollo y estructura de los dientes, y como modelo en el estudio para mantener la salud gingival y dental. Muchos investigadores los consideran alternativas viables al gato en estudios farmacológicos.

Debido a que los hurones son susceptibles a una gran variedad de enfermedades, éstos deben ser cuarentenados por dos semanas antes de ser introducidos a la colonia.

El distemper canino es una grave enfermedad en los hurones, que puede causar una mortalidad tan alta que puede llegar hasta el 100%. Este virus es transmitido por contacto directo o por aerosoles. Tiene un período de incubación de 10 a 12 días.

Los signos clínicos incluyen congestión nasal y descarga ocular; los músculos presentan tremor que se incrementa hasta llegar a convulsiones. Si un hurón se enferma debe ser sacrificado por eutanasia inmediatamente e iniciar un período de esterilización y desinfección. Para evitar la transmisión, debe evitarse el contacto con perros. Se les debe vacunar contra distemper canino con vacunas de virus inactivado.

Son susceptibles a cepas de tuberculosis de humanos, bovinos y aves, la cual se puede evidenciar en tracto digestivo y nódulos linfáticos. Una rápida emaciación en estadios tempranos es el único signo. También son susceptibles al virus de la influenza humana. Los signos clínicos son fiebre, letargia y anorexia; ésto nos lleva a una neumonía y la muerte en dos meses. La tabla 7.1 proporciona información sobre datos morfológicos y fisiológicos.

#### **Cuidados**

Las jaulas para conejo con puertas ajustables y barrotes muy cerrados son adecuadas para alojarlos. No se deben usar comederos de conejos sin tapa ya que una vez vacíos los hurones pueden escapar através de ellos. En el bioterio pueden mantenerse uno, dos, o un grupo de varios animales por jaula. Las hembras lactantes sudan profusamente por lo que necesitan jaulas muy bien ventiladas.

La temperatura de las salas para adultos de 4°C a 18°C, con una óptima temperatura de 15°C a 17°C. Los lactantes requieren de temperaturas de 15°C o más. La humedad relativa debe ser de entre 40% y 65%. Requieren de una exposición a la luz de 6 a 8 horas y 16 a 18 horas de obscuridad, también como todos los animales, requieren de un ambiente apacible. Individualmente se pueden identificar con collares, pintura epóxica ó tatuajes en las orejas.

#### **Alimentación**

Facilmente se adaptan a una variedad de dietas. Se alimentan bien con carne molida mezclada con alimento seco para perros ó gatos, suplementados con hígado, aceite de hígado de bacalao y leche.

#### **Manejo y Sujeción**

Son difíciles de sujetar. Se pueden manejar fácil y rápido usando guantes, ya que son muy ágiles, flexibles y de cuello estrecho, es importante sostenerlos firmemente. Deben ser sostenidos con la mano detrás de las patas delanteras y con la otra mano detrás de los miembros posteriores. Quienes nunca han manejado hurones deben usar guantes de piel. Cuando hay un ayudante pueden ser manejados facilmente sin guantes.

#### **Sexaje y Reproducción**

Durante la estación de cruza los testículos de los machos descienden dentro del escroto. El pene está en la región ventral y contiene un hueso peniano como el del perro. Las hembras en estro muestran escurrimiento en la vulva.

Su peso corporal varía significativamente de acuerdo con las diferencias individuales y cambios estacionales; pierden peso en la primavera, que es la época de celo y lo recuperan en otoño. La hembra es receptiva al macho solo cuando está en estro, pero el apareamiento es complicado ya que también el macho tiene una época de apareamiento. Los testículos están presentes en el escroto solo de enero a junio.

Por lo anterior puede una hembra estar receptiva al macho pero el macho puede no tener espermatozoides viables si los testículos aún no han descendido.

#### Técnicas de Laboratorio

Los sitios comunes para sangrar son el corazón, la vena cefálica, la vena safena y la vena de la cola. Los sitios para inyección endovenosa son las venas cefálicas y safenas.

La analgesia puede lograrse administrando fenilbutazona oral 100mg/kg. de peso corporal ó mepiridina con HCL (Demerol) por vía IM. 4mg/kg. Se induce a la anestesia con pentobarbital IP. 30mg/kg. ó ketamina HCL por vía IM. 20-30mg/kg. Los anestésicos inhalados pueden usarse a efecto. Los hurones pueden sacrificarse por eutanasia con sobredosis de anestesia inhalada ó barbitúricos.

#### ZARIGÜEYAS.

Las zarigüeyas (Didelphis virginiana) es un miembro del orden marsupialia. Los marsupiales son mamíferos no placentarios que generalmente tienen una bolsa abdominal llamada marsupia, en la cual la hembra lleva las crías. Aproximadamente 250 marsupiales (especies) son nativas de Australia, donde ocupan nichos ocupados por otros mamíferos más grandes en otras partes del mundo. Varias especies de marsupiales son propias de Sudamérica, pero la zarigüeya es nativa de Norte América.

La zarigüeya es útil como modelo bioquímico en biología comparativa, de desarrollo y en medicina. El potencial más grande lo constituye el estado semi-embriionario al nacimiento, ya que es el único mamífero en Norte América que presenta ésta oportunidad de observación. Este estado semi-embriionario, también permite al carecer de la barrera placentaria, una mínima influencia metabólica de la madre; y la manipulación química o física de los tejidos embrionarios y fetales en desarrollo. (ver la tabla 7.1 para revizar datos morfológicos y fisiológicos).

Las zarigüeyas silvestres atrapadas, son los animales de laboratorio silvestres más susceptibles a enfermedades. Son una fuente potencial de varias formas de enfermedad humana incluyendo la rabia, salmonelosis y toxoplasmosis. Si las zarigüeyas son estresadas al agruparlas, son altamente susceptibles a endocarditis bacterianas. Se han aislado streptococos de ellas y el tratamiento generalmente es inefectivo, ya que mueren después de dos ó tres días. Para poder utilizarlas es necesario desparasitarlas (contra ecto y endoparasitos), cuarentenarlas por más de dos semanas y generalmente monitorear su estado de salud diariamente.

Los ectoparasitos más comunes son piojos, chinches y pulgas. Un parasito muy común en la zarigüeyas es Besnotia jellisoni. que produce nodulos blancos del tamaño de una cabeza de alfiler en la piel especialmente de cabeza y orejas.

Los endoparasitos del tracto gastrointestinal y pulmones son nemátodos, tremátodos y gusanos planos (comunmente mesocestoides). Especies de Physaloptera son los únicos endoparasitos que producen

signos clínicos, comunmente úlcera gástrica, diarrea y emaciación. El tratamiento contra Physaloptera usualmente consiste en la administración de una mezcla de piperazina y disulfato de carbón. Los animales por lo regular regurgitan estos gusanos después del tratamiento.

Las mordeduras son comunes y si no se tratan no sanan bien, los antibióticos parenterales pueden ser de ayuda.

#### Cuidados.

Las jaulas para perros pequeños, gatos ó conejos pueden servir para alojarlas individualmente. No se recomienda alojarlas en grupos, ya que desde jóvenes se muerden ó hay canibalismo. Si es necesario agruparlas se debe proporcionar un nido a cada una para minimizar peleas. En éste caso deben alojarse en jaulas grandes con puertas por fuera ya que son excelentes trepadoras, y los cerrojos deben estar cubiertos con una placa de metal para prevenir que escapen.

Un rango agradable de temperatura es de 21°C a 25°C y la humedad relativa debe de ser del 45% al 65%. Deben tener un ciclo de 12 horas luz. Para ser identificadas pueden ser tatuadas en las orejas, en el corvejon o en el muslo; se les pueden poner aretes en las orejas. Las pulceras pueden ser una forma de identificar animales jóvenes.

#### Alimentación

En vida libre comen principalmente carroña. También comen lombrices de tierra, insectos, ranas, pájaros, víboras, pequeños mamíferos, granos, frutas y vegetales (especialmente manzanas y maíz).

En el bioterio se adaptan a comida para perros ó gatos (húmeda ó seca). Algunos estudios indican que la comida seca es palatable, nutricionalmente adecuada y superior a comidas húmedas para mantenimiento y cruzamiento. La suplementación de la dieta con harina de hueso es benéfico para las zarigüeyas.

#### Manejo y Sujeción

Las zarigüeyas son perezosas durante el día pero más agresivas y difíciles de manejar que durante la noche. Para sacarlas de la jaula el manejador debe distraerlas para tomarlas de la cola. Como se agarran fuertemente de la jaula pueden meter los dedos entre la malla y lastimarse, las uñas sangran profusamente. Para evitar este problema se debe colocar un canal o una tabla bajo el animal que será sacado de la jaula. Una zarigüeya puede ser transportada de la cola si se tiene cuidado de que el animal no se agarre de ningún lado para evitar jalonearla. Manejandola continuamente se puede evitar el problema.

Una zarigüeya puede ser inmobilizada aplicando tensión sobre la cola y tomandola por la espalda ó el cuello. La mano que sostiene el cuello es desplazada lateralmente para que con la otra también se pueda sostener el cuello. Con ambas manos el cuello es sostenido gentilmente formando un círculo alrededor de éste. Los últimos tres dedos de la mano son colocados para sostener los hombros del animal



y los dedos índices quedan cruzados debajo del cuello. El animal debe quedar imposibilitado para mover la cabeza y abrir la boca. Esta es una técnica difícil que sólo los familiarizados con el comportamiento de las zarigüeyas deben realizar.

### Sexado y Reproducción

Las hembras tienen un marsupio, o sea una bolsa abdominal y son más grandes que los machos. Los machos tienen escroto externo.

Al nacimiento la cría trepa entre el pelo de la madre hasta la abertura vertical de su bolsa. En la bolsa hay entre 11 y 13 pezones, las crías se toman de uno con la boca, aquí permanecerán por dos meses. Una vez que se ha tomado del pezón un movimiento forzado puede dañar a la cría ó a la madre. La cría viaja junto con la madre hasta que la lactancia termina.

### Técnicas de Laboratorio

Los sitios comunes para el sangrado son el corazón, la vena yugular, la vena femoral, la vena de la cola, y en las hembras la vena de la bolsa.

La analgesia se puede realizar con mepiridina HCL (Demerol) por vía IP. 35 a 42mg/kg. Para anestesiarias se usa pentobarbital por vía IP. 35-42mg/kg., Pentotal por vía IP. 50mg/kg ó ketamina HCL IM. de 15 a 30mg/kg. También toleran anestésicos inhalados como otras especies. Las zarigüeyas se pueden sacrificar por sobredosis de anestésicos inhalados, barbitúricos y CO<sub>2</sub>.

### PERROS DE LA PRADERA

Los perros de las praderas (Cynomys sp.) son miembros de la familia de las ardillas, Sciuridae. También llamados cola de sombra; por el habito que tienen de colocar la cola sobre su espalda.

El perro de las praderas más común en los E.U.A. es el perro de las praderas cola negra (Cynomis ludovicianus) y el perro de las praderas cola blanca (Cynomis leucurus). El de cola negra es originario de Montana y Suroeste de Dakota del Norte, Sur ó Noroeste de Texas, Nuevo México y el extremo Suroeste de Arizona también del Noroeste de Nuevo México.

Se sabe poco sobre la fisiología del perro de las praderas y rara vez son usadas por los científicos. Su peso corporal varía de estación a estación hasta por un 50%. El peso de un adulto cola negra puede variar de 900g a 1360g aproximadamente. Si se alimenta bien cualquier perro de las praderas puede llegar a los 2kg. El peso de un adulto cola blanca varía de 675g. a 1125g. aproximadamente.

### Cuidados

Los perros de las praderas se mantienen mejor en cautiverio cuando son alojados en jaulas de acero inoxidable individuales para conejos. Solo deben alojarse unos cuantos por sala ya que hacen sonidos vocales que pueden ser muy ruidosos, especialmente los de cola negra y pueden causar disturbios. Las jaulas deben lavarse una vez cada dos semanas y el cambio de cama también cada dos semanas.

La temperatura óptima es de 21°C aunque puede soportar temperaturas menores. No hibernan pero disminuyen su actividad al llegar las temperaturas de congelación. La humedad relativa debe ser del 40% al 60% y los animales deben tener un ciclo de 12 horas día/noche.

Los perros de las praderas, especialmente de cola blanca tienen pulgas que pueden transmitir la peste bubónica. Por eso es importante que tan pronto ingresen se les desparasite externamente. Pueden identificarse individualmente con pintura epóxica y rasurando el pelo, pero los tatuajes en las orejas proporcionan una forma de identificación más permanente.

#### **Alimentación**

En la naturaleza las plantas verdes, como los pastos comprenden el 98% de su dieta. En el laboratorio se pueden adaptar a una dieta estandard para herbívoros como la usada para conejos. Estos animales toman los alimentos con las manos y se sientan sobre las patas posteriores. Es muy importante el sabor de la comida.

En su habitat natural la fuente de agua se encuentra contenida en su alimento, que en su mayor parte consta de pastos. Como los pellets para conejo tienen mucho menor humedad que los pastos y los vegetales verdes, tienen que aprender a beber de los tubos de las botellas con agua.

#### **Manejo y Sujeción**

Las mordeduras pueden ser severas. Los manejadores se deben proteger con guantes de piel como los usados para manejar primates. Para poder sacarlos de la jaula, deben ser obligados a sentarse sobre sus miembros posteriores de frente a una esquina de la jaula, con la espalda hacia el manejador; el animal es rápidamente sostenido con la mano detrás de la cabeza y los miembros posteriores se sostienen con la otra, con fuerza pero suave antes de sacarlos de la jaula.

Para calmar a los perros de la pradera durante el transporte deben ser colocados en jaulas cerradas, limpias, cubiertas pero bien ventiladas y de preferencia en oscuridad ya que es más seguro. Para inyectarlos y sangrarlos pueden ser detenidos manualmente sosteniéndolos firmemente.

#### **Sexado y Reproducción**

La distancia urogenital del macho es el doble que el de la hembra. Las hembras adultas tienen pezones prominentes. Se cruzan en febrero o marzo. Después del período de gestación de aproximadamente un mes, paren camadas que pueden ser de cuatro ó cinco crías carentes de pelo, incapaces de oír y con la vista aún no desarrollada. En la naturaleza las crías emergen por primera vez de su madriguera a las seis semanas y permanecen en la madriguera hasta las 10 semanas. Su longevidad es de siete u ocho años.

#### **Técnicas de Laboratorio.**

La forma más efectiva para sangrado es por punción cardíaca ó por corte en la cola. Los analgésicos y anestésicos a usar en éstos animales están aún bajo estudio. Pueden sacrificarse con eutanasia

con sobredosis de anestésicos inhalados ó barbitúricos inyectados.

### **MARMOTAS.**

La marmota (Marmota monax) es un roedor parecido al perro de las praderas, que pertenece a la familia de las ardillas (Sciuridae). Es importante para la investigación de la hepatitis viral y carcinoma hepatocelular. Ha sido utilizado como modelo de investigación de Hepatitis B, obesidad, balance energético, funciones endocrinas y metabólicas, mecanismos de control del sistema nervioso central y enfermedades cardiovasculares cerebrovasculares y neoplásicas. Los investigadores comunmente utilizan animales silvestres atrapados, aunque también son disponibles las criadas comercialmente.

Las marmotas silvestres capturadas pueden ser portadoras de enfermedades zoonóticas como rabia, fiebre de las montañas rocosas, tularemia, leptospirosis, histoplasmosis, toxoplasmosis encefalitis humana, e infecciones fúngales. Antes de introducir las a la colonia hay que cuarentenarlas individualmente por tres semanas. Durante la cuarentena deben ser tratadas contra ectoparasitos tales como pulgas, piojos, garrapatas, chinches y endoparasitos como protozoarios, tremátodos, céstodos y nemátodos.

Las marmotas son susceptibles a varias infecciones bacterianas, muchas de las cuales producen anorexia, perdida de peso y letargia. Cuando la infección es sistémica generalmente no hay respuesta al tratamiento con antibióticos. Cuando hay infecciones menores responden favorablemente a antibióticos como la penicilina G procainica y oxitetraciclina.

En cautiverio muestran una poco común mayor incidencia a arterioesclerosis, ruptura de la aorta y enfermedades cerebrovasculares y cardiovasculares.

Estas enfermedades pueden deberse a la dieta, ya que un incremento en la cantidad de fibra y un decremento en las grasas, reducen la incidencia de ruptura de la aorta y las hemorragias cerebrovasculares.

### **Cuidados**

Las marmotas se pueden mantener en jaulas standard de metal como las usadas para gatos, perros o conejos, pero no deben estar cerradas con picaporte que puedan abrir. El alimento y el agua no deben estar sobre el piso para evitar que lo pisen. Estos animales se adaptan a cualquier tipo de piso como maya de metal o piso de reja, que son de fácil manejo.

Los adultos deben estar solos ya que suelen pelear cuando estan en grupo. Las hembras pueden agruparse pero habrá pequeños grupos que monopolicen el alimento, si esto ocurre deben ser separadas. Los lactantes se pueden alojar individualmente o en grupos, en jaulas tipo del tamaño de cajas de zapatos para roedores. Pueden permanecer con sus crías hasta el primer invierno, después de esto se deben separar por sexo.

La mejor temperatura va de los 21°C a 25°C. La humedad relativa debe ser de 40% a 60% y deben tener un ciclo de 12 horas día/noche.

Individualmente pueden identificarse con marcas en la piel, las marcas en orejas y el colocar aretes proporciona una identificación más permanente.

#### **Alimentación**

La dieta común para marmotas mantenidas en zoológicos y bioterios es una mezcla de vegetales verdes, manzanas y granos (maíz, cacahuate, y frijol de soya ). También comen alimento comercial para conejos.

#### **Manejo y Sujeción**

El manejo de estos animales es peligroso, pero el peligro puede reducirse manejándolos con calma y de una manera firme; Pueden girar y morder, pero el manejador se puede proteger con guantes como los usados para manejar primates.

Para levantar una marmota, su cabeza y hombros deben ser inmovilizados sosteniéndolos de la región dorsal del cuello. La base de la cola es sostenida con la otra mano y con esto los miembros posteriores. Con las debidas precauciones pueden ser transportados de la cola. Una marmota acostumbrada al manejo puede ser manejada sin guantes poniendo la mano bajo el pecho de ésta. La contención física es difícil ya que ésta puede girar su propio cuerpo.

#### **Sexado y Reproducción**

Para determinar el sexo, la distancia ano-genital debe ser comparada, ésta, es más grande en machos que en hembras. En marmotas de más de dos años no es fácil distinguir el sexo externamente.

#### **Técnicas de Laboratorio**

La forma más común de sangrado es la punción cardiaca y la punción en la vena femoral. Como hay una gran diferencia entre el peso corporal en verano y la primavera, las dosis de anestésicos deben de ajustarse. Durante la primavera las marmotas pierden peso por lo que se usa pentobarbital IP. a 50mg/kg.; y durante el verano el animal es más pesado y se usan 35mg/kg. Si los protocolos de investigación prohíben el uso de anestésicos inyectados, se pueden usar gases como el halotano-oxígeno, ajustando la dosis al peso corporal. Una sobredosis de barbitúricos son útiles para la eutanasia.

#### **PRIMATES NO HUMANOS.**

Los primates se dividen en, los primates del Viejo Mundo y los del Nuevo Mundo. El suborden Prosimii incluye Lemures, Ayes-Ayes, Loris y Pottos. El orden Antropoidea incluye Tamarinos, Titís, Sakis, Aulladores, Monos ardilla, Capuchinos y Monos araña. En éste suborden se encuentran las superfamilias Cercopithecoidae que incluye patas, macacos, baboons, langurs, proboscideos y colomus; y la Hominoidea que incluye gibones, orangutanes, chimpances, gorilas y humanos. La tabla 7.2 proporciona género, especie y nombre común de los primates no humanos de mayor interés para la

comunidad científica interesada en los animales de laboratorio.

El incremento continuo de las dificultades para conseguir animales silvestres sanos para los propósitos de investigación, ha sido el principal incentivo para establecer programas de cruce. Se ha establecido un buen número de colonias para reproducción en centros nacionales de primates. Los técnicos empleados en éstos centros gastan la mayor parte de su tiempo en estos programas reproductivos, por lo que se proporcionan fuentes de información en cada sección para los interesados.

### **Reproducción**

Detectar las fechas de apareamiento requiere tener conocimiento de los ciclos estrales. Todas las hembras de monos del Viejo Mundo y algunas especies del Nuevo Mundo tienen un ciclo muy parecido al de los humanos. La duración del ciclo estral de los primates no humanos más utilizados se encuentran en la tabla 7.3. Solo las grandes especies como chimpances y baboons muestran una menstruación visible, congestión vulvar y secreción en la piel de los genitales.

En la mayoría de los monos rhesus un raspado vaginal es tomado diariamente para determinar la etapa del ciclo estral. Algunas hembras rhesus muestran enrojecimiento en la piel de los genitales. En el séptimo día del ciclo de 28 días la hembra en estro admite un macho en la jaula por 24-72 horas. El tiempo que el macho permanezca con la hembra depende de la compatibilidad de pareja, así como de la necesidad de usar al macho para otros estudios. Se deben cruzar cada estro hasta que la gestación se detecte.

Para detectar el tiempo de apareamiento de los baboons y chimpances, la turgencia de la piel de los genitales debe de observarse diariamente; un inconveniente es la dificultad para detectar el grado de turgencia. Un sistema comunmente usado indica 0 para la ausencia de congestión, 1 congestión ligera, 2 para congestión media o máxima, 3 para una turgencia total pero con ligeras arrugas, 4 para máxima congestión, y B para sangrado vaginal que indica menstruación ó complicaciones en la gestación. La piel de los genitales se llena de líquido cuando está turgente; En esta condición es frágil y puede sangrar profusamente. Las hembras pueden subir hasta 2kg. de peso por la turgencia.

Lo mejor para "leer" a cada hembra diariamente, es registrando la historia de los tres ciclos menstruales anteriores, antes de la época de apareamiento. La ovulación ocurre cerca del tercer día antes de que la turgencia disminuya. La hembra debe ser llevada con el macho en el séptimo día antes de la fecha determinada para la regresión de la turgencia y permanecer con él los demás días hasta que la desturgencia ocurre. La cópula ocurre inmediatamente o dentro de la primera hora. La observación de un cuagulo de semen en la apertura vaginal demuestra que la cópula ha ocurrido.

Como los humanos, las hembras primates tienen un ciclo menstrual normal, algunas menstruan por 1 día y otras hasta por 10. La evidencia de la subsecuente implantación es la ausencia del ciclo

estral y la piel de la vulva se torna rosa y brillante debido a los niveles de estrógenos que son altos. Si el color de la piel no es brillante ó es grisácea esto es un indicio de complicaciones en la gestación. En macacos un fenómeno anormal conocido como implantación sangrante ocurre próximo al sangrado menstrual, esto puede ocurrir por varios días. El sangrado cercano al término de la gestación indica una separación prematura de la placenta; en este caso si la hembra está tranquila y no estresada puede completar la gestación con poca probabilidad de complicaciones.

La turgencia de la piel de los genitales es mantenida por los niveles de estrógenos en el torrente sanguíneo; aunque la turgencia en animales gestantes indican un cambio en los niveles de estrógenos. El sangrado vaginal y la turgencia de la piel también pueden indicar que la placenta está cubriendo al cervix. Esto es fatal para los productos y es necesario hacer cesarea inmediatamente. Todas estas complicaciones deben ser asesoradas por un veterinario y no pueden ser completamente diagnosticadas si no se han realizado estudios de laboratorio.

### **Cuidado de las Crías**

Lo mejor es que sean mantenidas con sus padres en un medio natural, pero es necesario el manejo de las crías ya que así lo requieren algunos protocolos de investigación.

El manejo del recién nacido requiere de ciertas técnicas; por ejemplo, es necesario un cajón incubador para alojarlos. La temperatura de la incubadora es de 29°C y la humedad relativa es de 40% a 60%. Se les proporciona 12 horas luz.

Los recién nacidos deben ser alimentados a base de agua y dextrosa, o una formula comercial de leche para niños. Si el recién nacido, nació bajo de peso se le debe dar una formula especial, la cual es disponible en hospitales infantiles para recién nacidos. Deben ser alimentados durante el día por cuatro veces; y en la noche sólo si es necesario de acuerdo con la salud de la cría. Conforme van madurando la formula puede incrementarse para mantener la salud y el crecimiento.

Aquí se proporciona un típico esquema de alimentación para monos rhesus:

1. Alimento 3-4ml de una solución 1:1.5% de agua y dextrosa cada dos horas por 8-10 horas después del nacimiento.
2. 4-8ml. de una solución 1:1.5% de agua y dextrosa cada dos horas desde las 10 a 24 horas después del nacimiento.
3. 10-15ml. de Similac ó Enfamil, etc. cada 4 horas por las proximas dos semanas. La cantidad de la formula se puede aumentar dependiendo del apetito ó la salud del infante.

Los procedimientos para alimentar monos ardilla recién nacidos son similares a los de los rhesus:

1. 1.5-2ml. de una solución de 1:1.5% de dextrosa y agua cada dos horas por 8-10 horas después del nacimiento.

2. 2-5ml. de una solución de 1:1.5% de dextrosa y agua cada dos horas por 10-24 horas después del nacimiento.

3. La fórmula anterior dependiendo de la salud y apetito del animal.

Si es necesario, la defecación puede ser estimulada por masaje en la región ano-genital con una toalla suave después de cada alimentación. Los excrementos deben de ser eliminados después de cada alimentación y la incubadora debe ser sanitizada diariamente. Para monitorear el progreso del recién nacido, éste debe ser pesado todas las mañanas antes de alimentarlo y toda la comida debe ser medida.

Una vez que es capaz de mantener su temperatura corporal y de alimentarse normalmente éste puede ser trasladado a una jaula pequeña para primates, mantenida a una temperatura de 26.6°C.

Una cría separada de la madre psicológicamente la necesita, por lo que se le coloca una toalla colgada dentro de la jaula que llegue hasta el piso. Cualquier otro objeto suave puede ser utilizado, pero este debe ser lavable. Se puede introducir a la jaula una botella de leche cerca de la madre (toalla) para dar la sensación de que es amamantado.

Una vez que la cría se acerca al destete, la dieta lentamente se va cambiando por una para adultos y el agua se le proporciona por una botella con un tubo bebedero. Muchos laboratorios han tenido excelentes resultados con la socialización de los primates introduciendo al grupo a varios de la misma edad. Esto proporciona una interacción en el comportamiento y un enriquecimiento ambiental, lo cual conduce al desarrollo de adultos bien socializados.

**Tabla 7.2.** Nomenclatura de primates no humanos usada en la investigación biomédica.

Nombre Científico	Nombre Común
<i>Aotus trivirgatus</i>	Mono bhúo
<i>Ateles paniscus</i>	Mono araña negro
<i>Callithix jaccus</i>	Mono pequeño común
<i>Cebus sp.</i>	Mono capuchino
<i>Cercocebus atys</i>	Sooty mangabey
<i>Cerropithicus aethiops</i>	Mono gris Africano
<i>Erythrocebus patas</i>	Mono Patas
<i>Hylobates lar</i>	Gibbon manos blancas*
<i>Macaca arctoides</i>	Macaco cola corta*
<i>Macaca fascicularis</i>	Macaco <i>Cynomolgus</i>
<i>Macaca mulatta</i>	Macaco japonés
<i>Macaca mulatta</i>	Macaco rhesus
<i>Macaca nemestrina</i>	Macaco cola de cerdo
<i>Macaca radiata</i>	Macaco Bonnet
<i>Pan troglodytes</i>	Chimpance*
<i>Papio papio</i>	Baboon del Oeste
<i>Saguinus oedipus</i>	Tamarín algodónado
<i>Saimiri sciureus</i>	Mono ardilla
<i>Theropithecus gelada</i>	Baboon gelada

\* Especies en extinción.



**Tabla 7.3. Duración del ciclo estral en primates no humanos comunmente usados en laboratorios de investigación.**

<b>Especies</b>	<b>Ciclo Estral Duración (días).</b>
Baboons.	28-35
Chimpances.	30-35
Mono pequeño común.	14-17
Rhesus.	27-35
Mono araña.	7-13

**UNIDAD 4****EL ENTORNO DE LOS ANIMALES  
DE LABORATORIO**

La unidad 4 de la sección I de este manual de entrenamiento, es una introducción al equipamiento, medio ambiente, e higiene, así como a todo lo relacionado con la ciencia de los animales de laboratorio. En esta sección, sin embargo, el texto presenta esos tópicos de una manera que muestra como se integran completamente las actividades de todo el bioterio. En esta unidad se analizan los programas de control de calidad, poniendo particular énfasis en satisfacer las buenas prácticas de laboratorio reguladas por FDA de los Estados Unidos. Este material se desarrolló usando un enfoque holístico, tomando como base la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de los Institutos Nacionales de Salud (NIH) de los Estados Unidos. La unidad proporciona información detallada sobre investigación especializada en animales de laboratorio, equipamiento, programas de seguridad, manejo de desechos peligrosos, planes de desastre, desinfección y métodos para alcanzar la elección de agentes químicos y formas para mejorar la higiene personal.

**CAPITULO OCHO****ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD**

En un programa de aseguramiento de la calidad se realizan verificaciones sistemáticas para varios aspectos de la operación del laboratorio, incluyendo el cuidado animal básico. Los bioterios establecen el nivel de su calidad a través de los manuales de procedimientos y operaciones de rutina que cada unidad diseña. Para asegurar el nivel de calidad se realiza un muestreo sistemático que permite conocer que tan bien se manejan sus procedimientos y operaciones de rutina.

Gran parte de este capítulo enfatiza el cumplimiento con los requerimientos de calidad en el laboratorio que se recomiendan en las Buenas Prácticas de Regulación (GLP) de la U.S. FDA, las cuales, por ley, se aplican únicamente a estudios de seguridad. Sin embargo, los principios y técnicas involucradas en el cumplimiento con la GLP son excelentes bases para el mantenimiento de la calidad de los programas para el cuidado animal en todas las instituciones, algunas de ellas no requieren seguir la GLP como parte de su investigación.

Un programa de aseguramiento de la calidad bien diseñado y consensudamente aplicado en un ambiente de laboratorio con animales reditúa muchos beneficios a los miembros del equipo de investigación; incrementa la confianza en la validéz de los resultados; confirma que el estudio fué conducido de acuerdo al protocolo e incrementa la responsabilidad de los investigadores.

Por estudiar las factibilidad de los componentes del sistema operativo, los programas de aseguramiento de la calidad permiten a los investigadores anticipar problemas y rechazar partes comprometedoras relacionadas con los animales o el alimento (por ejemplo), antes de que lleguen a ser parte del estudio.

Muchos artículos revisados o monitoreados en un programa de aseguramiento de la calidad son variables controlables. Monitorearlos provee evidencias de que su influencia es en verdad, estrictamente controlada de una forma u otra (por ejemplo, la temperatura de una habitación) o distribuida aleatoriamente (por ejemplo, la localización de las jaulas).

El uso de la frase "aseguramiento de la calidad", asume cuales constituyentes de la calidad, en el contexto de animales y su ambiente, pueden ser definidas. Calidad en ese contexto es en gran medida una función de nuestra habilidad para probar (conocimiento) y nuestra buena voluntad para probar (habilidad económica). Además, aseguramiento, propone declarar con confianza, o ciertamente, es un acto de fé por parte de las personas aseguradas. Así, el peso que soportan aquellos encargados del aseguramiento de la calidad es grande.

El aseguramiento de la calidad debe ser considerado, por lo tanto, no es un conjunto de pruebas estáticas, pero es algo más que un programa que se está elaborando, es un proceso cinético que provee de confianza y formalidad.

#### **REGLAMENTOS PARA LAS BUENAS PRACTICAS DE LABORATORIO**

La FDA ha dictado la estructura y función de un programa de aseguramiento de la calidad directamente dentro de sus regulaciones de Las Buenas Prácticas de Laboratorio. La sección, 58.35 de sus regulaciones estipula que: (a) Una instalación debe probar el tener una unidad de aseguramiento de la calidad, compuesta por uno o más individuos, quienes deben ser responsables del monitoreo de cada estudio para asegurar el manejo de esas instalaciones; equipamiento, personal, métodos, prácticas, registros y control en conformidad con las regulaciones en esta parte. Para un estudio dado, la unidad de aseguramiento de la calidad debe estar enteramente separada e independiente del personal encargado de la dirección y conducta de ese estudio.

Los siguientes incisos de esta sección se refieren a los requerimientos que debe tener un bioterio:

1. Mantener una copia del inventario, patrón de estudios conducidos en la instalación ordenando los artículos alfabéticamente. El inventario debe proporcionar descripciones de los sistemas de prueba usados y de la naturaleza del estudio, la fecha en que se inició el estudio y los nombres del director y responsable del mismo.
2. Mantener copias de los protocolos.

3. Revisar cada estudio periódicamente y mantener firmados los reportes de inspección que incluyen los problemas encontrados y las acciones recomendadas.

4. Determinar que no haya desviaciones del protocolo aprobado o hecho sin documentación ni autorización del SOPs.

5. Revisar el reporte final para conformidad del protocolo y del SOPs, agregando un sumario de informes de inspección al final del reporte.

6. Tener disponible para la FDA, en forma escrita, una lista de las líneas de responsabilidad y los métodos de registro, ordenandolos alfabéticamente y mantener a la mano todos los registros de aseguramiento de la calidad en el bioterio.

Procedimiento Operacional Estandar (SOPs): sección 58.81 del GLPs requiere que las pruebas de la instalación estén establecidas en la SOPs pero no limitadas a:

- . Manejo de pruebas y artículos de control.
- . Mantenimiento y calibración del equipo.
- . Cuidado animal.
- . Preparación de los cuartos de animales.
- . Observaciones del sistema de pruebas.
- . Pruebas de laboratorio.
- . Manejo de animales muertos o moribundos.
- . Necropsias de animales.
- . Colección e identificación de muestras.
- . Histopatología.
- . Manejo y almacenaje de los datos.
- . Traslado, colocación e identificación de animales.

Diseño del Equipo: la sección 58.61 del GLPs especifica que el equipo automático, electrónico o mecánico para el procesamiento de datos o para el control medioambiental debe ser apropiado en diseño y capacidad.

Debe funcionar de acuerdo al protocolo y se debe establecer una operación, mantenimiento, inspección y limpieza adecuada.

Mantenimiento y Calibración: la sección 58.63 requiere de inspección adecuada, limpieza y mantenimiento de todo el equipo. Específicamente, esta sección escrita en el SOPs cubre el mantenimiento del equipo, metodología y uso de materiales, el horario de rutina para el mantenimiento del equipo, inspección, pruebas y calibración o estandarización. Estas SOPs además, deben especificar las acciones que deben tomarse en caso de mal funcionamiento del equipo y deben designar personal o responsables

- . Una descripción del nivel de dosificación expresado en mg/kg u otras unidades apropiadas.
- . Una descripción de los métodos por los cuales se determine el grado de absorción de la prueba y artículos control.
- . Una descripción del tipo y frecuencia de las pruebas, análisis y mediciones que se hagan.
- . Indicar cuales registros se han mantenido.
- . Fecha de aprobación del responsable y firma del director del estudio.
- . Una descripción de los métodos estadísticos utilizados.

Todos los cambios y sus razones deben ser documentados y firmados por el director del estudio, fechados y mantenidos con el protocolo.

Conducción de Estudios no Clínicos: La sección 58.130 de GLPs requiere que el estudio sea conducido en concordancia con el protocolo. Todos los datos (excepto los introducidos directamente en la computadora) deben ser registrados directamente (sin transcripción), prontamente, legibles y con tinta. Los datos introducidos deben ser fechados el día que se introducen y firmados por el personal que los introdujo. Los cambios en el registro pueden hacerse si el cambio no borra al original. Se deben dar las razones para un cambio y el cambio debe fecharse y firmarse. Introducciones individuales de datos a la computadora deben identificarse con la hora de su realización y un cambio no debe borrar la entrada original.

#### **LA APROXIMACION HOLISTICA PARA EL ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD**

Un buen momento para iniciar un programa de aseguramiento de la calidad es cuando el criador o el vendedor proveen los animales, otro es cuando el proveedor o fabricante del equipo nos provee. Un sitio para visita e inspección del proveedor de los animales, indicará la habilidad o ineficiencia del proveedor para aumentar el trabajo del equipo de investigación. Un local de visitas para los proveedores e investigadores y agencias de repaso, tales como la Asociación Americana para la acreditación del Cuidado de Animales de Laboratorio (AAALAC), la FDA y el NIH, pueden ayudarnos a incrementar las facilidades de los programas de aseguramiento de la calidad de la investigación. Para evaluar completamente el estado o condición animal, en el local proveedor o en el de investigación, el estado del animal será tan bueno como el medio ambiente total en el cual su vida se define. Por ejemplo, un ratón Balb/C viviendo en un aislador axénico debe ser bien diferenciado de un ratón Balb/C escapado y que vive en el campo. Este aprovechamiento Holístico no es fácil de llevar a cabo porque mucha gente no considera todas las cosas juntas al mismo tiempo. Este problema puede evitarse usando el aprovechamiento de muchos entomólogos: Ellos consideran que el

individuales para cada operación. En suma, copias de esas regulaciones del SOPs deben estar disponibles para el personal de laboratorio. Escribir los registros de todos los procedimientos de calibración y mantenimiento especificados por el SOPs, incluyendo fechas en que fueron ejecutadas y seguir el SOPs. Cada área de laboratorio debe tener manuales y el SOPs que son pertinentes llevar a cabo. Se debe mantener un fichero del SOPs con fechas y revisiones.

Cuidado Animal: sección 58.90 del SOPs se refiere al alojamiento, alimentación y cuidado de los animales. Las regulaciones requieren que el bioterio tenga en cuarentena y evalúe la salud de los animales recién recibidos, identificación adecuada de cada animal, cuartos separados para cada especie, análisis del agua y alimento para detectar contaminantes. Los materiales para cama limpieza y control de plagas no deben interferir en los estudios en los cuales los animales serán usados. Cualquier control de plagas usado debe ser documentado. Los animales deben estar libres de signos clínicos o enfermedades al iniciar el estudio.

Protocolo: la sección 58.120 pide que cada estudio tenga una aprobación del protocolo por escrito, indicando los objetivos a estudiar y todos los métodos usados para alcanzar los objetivos. El protocolo debe incluir:

- . Un título descriptivo y un propósito.
- . Identificación de la prueba y control de artículos por nombre, o número de código.
- . Nombre del responsable.
- . Nombre y dirección del sitio de investigación.
- . Declarar el inicio y cumplir fechas.
- . Justificación de la selección del sistema de prueba o pruebas de especies.
- . Establecer el número, peso, género, fuente de abastecimiento y edad de los animales usados en el sistema de prueba.
- . Una descripción del diseño experimental, incluyendo métodos para el control del sesgado.
- . Una descripción o identificación de la dieta así como solventes, emulsificantes, u otros materiales usados como prueba o artículos control.
- . Especificaciones para niveles aceptables de contaminantes.
- . Una descripción de la vía de administración de drogas o material de prueba, frecuencia y razones por las que se eligió esa ruta.

medio ambiente total para una estudio es biótico, nutritivo, climático, además de aspectos temporales. Un aprovechamiento provee una gupia usual para solucionar algún problema esforzandose en el manejo del laboratorio animal.

### **Aspectos Bióticos**

Procuración de Animales: mientras algunos laboratorios animales cruzan y crían en un local del laboratorio de prueba, muchos se adquieren de criadores o vendedores externos. La probabilidad de recibir animales que exactamente cumplan las necesidades del protocolo se incrementan significativamente si los procedimientos se dictan completa y precisamente. Especificaciones en desarrollo para la obtención de animales, deben tenerse en mente ya que entre más detalladas sean las especificaciones, el costo del animal es mayor. Por ejemplo, si animales libres de patógenos específicos acumulen todos los requerimientos de un protocolo experimental, no es necesario comprar animales libres de gérmenes. Un típico procuramiento de especificaciones animales comienza con una descripción general que es aplicable a todas las especies, entonces se enlistan los requerimientos específicos.

A continuación aparece una forma donde se establecen las especificaciones típicas:

#### **Especificaciones de Obtención Animal**

Los proveedores, animales deben cumplir con todos los aspectos de la ley de bienestar animal, si es apropiado para todas las especies, debe estar bien establecido co el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos y debe estar acreditado por la AAALAC. Los proveedores deben de cumplir con las leyes federales, locales, estatales, estándares y regulaciones referidas al cuidado, alojamiento y transporte de animales de laboratorio en jaulas. La procuración detallada de los estándares en este documentoson la guía contra la cual se evaluan todos los proveedores. Cuando existen discrepancias, el curso de la evaalución debe basarse en la naturaleza de la desviación, el impacto en la salud de los animalaes, la norma comercial para producción de las especies, y la disponibilidad de caminos alternos que impidan tal desviación. El proveedor de animales debe estar disponible para revisar (nombre del individuo o institución) y estarán sujetos a las limitaciones precisadas, para barreras de operación.

#### **Especificaciones de Especie**

Nombre de especies:

Tipo de medio ambiente (línea SPF o sublínea):

Requerimiento especial de provisión del núcleo (cesárea):

Lista de patógenos (excento y no expuesto previamente):

Definir criterios de compatibilidad (deshidratados, sin drogas o medicamentos):

Requerimientos de cuarentena:

Instalaciones del proveedor, especificaciones de alojamiento, tipos de jaula y construcción conforme a la guía (Guía para el Uso y Cuidado de Animales de Laboratorio); ventilación y aire acondicionado, cruzamiento y registros genéticos disponibles:

Empadre, alimento, camas, conforme a la guía: tener profesionales disponibles.

Especificaciones de los vehículos de transporte:

Consideraciones Genéticas:

El origen aleatorio de los animales y las líneas, han demostrado su utilidad en el pasado y es ampliamente usado en investigación animal. Así, nombres aleatorios, muchas veces no tienen sentido (por ejemplo ratón suizo) o se refieren a características controladas por un solo gen (por ejemplo conejo albino). Si los animales obtenidos de una colonia cerrada pueden llamarse así propiamente por las reglas de nomenclatura para líneas abiertas, la identificación de los proveedores de las líneas es usualmente aceptable.

Con líneas cerradas la situación es diferente: las líneas consanguíneas pueden y retienen su genotipo por muchos años, no es para siempre. Los cambios genéticos en las líneas consanguíneas pueden ser resultado de heterocigosis residual o de nuevas mutaciones acumuladas que se vuelven a establecer en las líneas. Esos tipos de cambios, mientras importan, se debe cuidar que se den suavemente. La contaminación genética, por otro lado, puede producir cambios devastantes que son aparentes de inmediato, en algunos casos, aparecen lentamente. Debido a que los animales contaminados usualmente muestran vigor híbrido, son más deseables para ser seleccionados como pie de cría, que los animales no contaminados.

Al hacer en consecuencia un monitoreo genético, este debe cumplir cuatro condiciones básicas:

1. Debe ser exacto, preciso y además altamente reproducible.
2. Debe ser relativamente fácil lograr.
3. Debe ser eficiente.
4. Debe ser económico.

Algunas prácticas específicas que pueden ayudar a mantener las líneas genéticas puras son:

1. Mantener cuartos limpios y bajo control.
2. Mantener las cajas y tapas en buen estado.
3. Mantener cada línea en cuartos separados.



4. Usar códigos de color en tarjetas para las cajas, destinando un color diferente para cada línea.

5. Para ayudar a prevenir que los animales se cambien accidentalmente, tomar las cajas por el asa una a la vez.

6. Adiestrar a todo el personal en principios básicos de genética.

7. Dar incentivos técnicos y tecnológicos para observar y reportar desviaciones en el número de animales o el fenotipo. Cuando se cuenten el número de animales destetados de una camada, siempre checar el conteo contra el número de nacidos.

8. Capturar, aislar y destruir a todos los animales hallados fuera de sus cajas, esto se facilita colocando trampas en los cuartos.

9. Delegar todo el trabajo a técnicos experimentados únicamente. Personal sin experiencia debe trabajar bajo supervisión de los más experimentados.

10. Observar cambios repentinos, esto sugiere que hay influencias externas. Estar al pendiente particularmente en cambios en el desempeño en las cruzas.

La razón primaria para establecer y mantener una colonia en cruza es producir animales de un genotipo específico para mantener sus especificaciones tanto como sea posible. Poco puede hacerse para controlar el rumbo genético, pero es improbable que sea de mucha importancia después de 40 o más generaciones de cruzamiento entre hermanos y hermanas. Muchos ratones consanguíneos disponibles son genéticamente puros después de haber sido cruzadas por más de 100 generaciones consecutivas.

La acumulación de mutaciones en animales consanguíneos es muchas veces difícil de lograr. Mantener la pureza genética de una colonia se ayuda de buscar únicamente animales que parecen normales y de animales seleccionados en las bases del desempeño de sus ancestros.

Muchas mutaciones que no producen efectos visibles tienen efectos deteriorantes en la salud o capacidad, seleccionar animales para cruzamiento puede ayudar a minimizar la fijación de esas mutaciones en la colonia. Para seleccionar buenos cruzamientos no es necesario incrementar el cumplimiento de las cruzas, pero ayuda a prevenirlo al disminuirlo. Los buenos cruzamientos deben ser cuidadosamente monitoreados, sin embargo, la contaminación genética puede manifestarse sólo como un incremento repentino en el desempeño de los cruzamientos.

Para monitorear el cumplimiento de los cruzamientos, se puede expresar matemáticamente usando el índice de cruzamiento (número de jóvenes destetados dividido entre el número de semanas transcurridas desde la cruza) o el índice Lane Peters Q (número de destetados dividido entre el número de días transcurridos desde la cruza, multiplicado por 100). Cada índice puede ser usado para

calcular medias, desviaciones estándar y rangos de cada colonia (las técnicas para esos cálculos se discuten en la unidad seis de esta sección). Desde que se establece el rango normal en una colonia, los sementales pueden seleccionarse a partir de sus parientes cuyo cumplimiento sea igual o mayor al porcentaje dado por los índices. Cuando se seleccionen líneas sin una colonia fundadora es preferible considerar en los cruzamientos de toda la línea lo común en las generaciones de parientes.

En animales caracterizados con propósitos de monitoreo, se deben considerar las características cualitativas y cuantitativas. Tres de las más importantes características son, color del pelaje, marcadores bioquímicos e inmunogenéticos.

A pesar del gran número de variaciones de color en el ratón, solo algunas se usan en el monitoreo genético. Los cambios raros de color son usados para monitorear únicamente las líneas específicas que los tengan. En los ratones normalmente el fenotipo de su capa de pelo se fija a las dos semanas de edad. Los animales jóvenes usualmente tienen el pelo más oscuro que los animales viejos y algunos pueden volverse grisáceos después de 40 semanas.

Distinguir los genotipos, sin embargo, no es tan fácil, dado que los alelos dominantes usualmente enmascaran la aparición de alelos recesivos y el efecto de los genes de un locus puede enmascarar la expresión fenotípica de otro locus. Son más difíciles las caracterizaciones genotípicas del color en líneas consanguíneas como el albinismo, los genes del albinismo enmascaran la expresión del color. Para descubrir el genotipo exacto del color del pelaje, se utilizan pruebas de cruzamiento. Las líneas de ratones DBA son comúnmente usadas en esos cruzamientos de prueba.

Ciertas enzimas en el ratón son usadas como marcadores bioquímicos, diferentes alelos producen cambios en la estructura de esas enzimas. Esos cambios pueden detectarse usando electroforesis y técnicas histoquímicas. La distribución de los alelos que causa esos cambios en una línea en particular constituye el perfil genético específico de esa línea. Entre las muestras adecuadas para las pruebas de electroforesis e histoquímicas se incluyen, el plasma, eritrocitos hemolisados, riñón y pulmón homogeneizados y orina. Esas muestras se deterioran rápidamente, por lo que deben usarse inmediatamente, pueden almacenarse por más de 2 meses a -20°C.

Bajo control genético un número de antígenos puede servir como marcadores inmunogenéticos para usar en el monitoreo de pureza genética de una línea de ratón u otros animales. Muchos de esos antígenos pueden encontrarse en superficies celulares, algunos en células especiales y otros en todas las células. Dos tipos comunes usados en el monitoreo genético son los antígenos eritrocíticos y los antígenos de histocompatibilidad. Antígenos usuales en células de tejido linfóide, algunas como células del timo o linfocitos. Animales que se les probarán sus antígenos eritrocíticos no necesitan ser sacrificados, solo se necesitan 80 microlitros de

sangre. Algunas muestras pueden colectarse de la vena de la cola o del plexo retro-orbital. Las muestras de colección son similares a las usadas en el banco de sangre, para hemaglutinación no debe hacerse en estado salino, algunos agentes como el dextrano son muy usados. La prueba es sensitiva y los resultados se obtienen rápidamente. Hay una baja fracción de resultados falsos negativos o falsos positivos. La mayor desventaja de esta técnica es que se necesita un serotipo especial.

Los antígenos de histocompatibilidad, los cuales son controlados por el gen loci de histocompatibilidad, se presentan en todas las células. El número es de varios cientos y pueden servir como marcadores virtualmente de cada cromosoma. Las pruebas para estos antígenos están elaborados para las técnicas de trasplantes de piel. El procedimiento es una labor intensa, como hacer varios pasos pre y postoperativos. Sin embargo, a la fecha no hay ninguna otra técnica que pueda reemplazarla para determinar la isohistogenecidad u otro método para detectar las diferencias de histocompatibilidad entre mutaciones o cruzamientos abiertos.

Hay varias desventajas para usar los antígenos de histocompatibilidad como medio de monitoreo genético. Para uno, hay del 5 al 20% de rechazo en injertos de piel cuando fracasa la técnica. Hay diferencias inmunológicas que producen rechazos similares, es difícil, pero no imposible, distinguir la causa del rechazo. En suma, esas pruebas requieren un largo periodo de observación (100 días) y un periodo relativamente largo de alojamiento de los animales. Para caracterizar animales con el propósito de monitoreo de pureza genética, sus características deben ser consideradas cuantitativa y cualitativamente. Los cruzamientos y la morfometría mandibular son dos medios bien aceptados como indicadores de la pureza genética.

Los cruzamientos pueden usarse como medios para detectar contaminación genética en colonias donde se notan incrementos súbitos en el tamaño de la primera camada. Por ejemplo, M. Festing (ICLAS Manual de Monitoreo Genético de Ratones consanguíneos) encontró un promedio de  $6.1 \pm 2.0$  en cinco líneas de ratones consanguíneos. Sin embargo, en 20 híbridos F1 (cruzamientos abiertos) derivados de esas líneas consanguíneas, encontró un promedio de  $9.5 \pm 2.8$  crías en la primera camada.

El vigor híbrido fué probablemente el responsable del incremento en el promedio de crías en los cruzamientos abiertos. Tal incremento súbito en las cruces puede indicar contaminación genética pero ciertamente no es concluyente. El incremento, sin embargo, sugiere que su progenie no debe usarse como pie de cría, a menos que su pureza genética se verifique con medios definitivos como antígenos de histocompatibilidad, marcadores bioquímicos o morfometría mandibular.

La técnica cuantitativa de medición de morfometría mandibular en el hecho que las características esqueléticas difieren ampliamente entre líneas consanguíneas. Además se ha mostrado por M. Festing que la variación de las mediciones de la mandíbula pueden usarse para

el monitoreo genético. Las proporciones de la mandíbula están bajo control poligénico, además, no se conoce exactamente cuales genes lo controlan. Las variaciones de tamaño refleja el medio ambiente y son fácilmente confundibles con variaciones de la forma, las cuales usualmente no son influenciadas por el ambiente. Para eliminar esta confusión, las computadoras pueden programarse para sumar las medidas y entonces expresar cada medida individual como un porcentaje de la suma.

Información específica del monitoreo genético para el tamaño de la camada, color de pelo en ratones, marcadores bioquímicos y perfil de antígenos eritrocíticos están disponibles en el Manual de Monitoreo Genético de Ratones Consanguíneos de ICLAS, los cuales están disponibles en las "lecturas complementarias" al final de este manual.

#### **Aspectos Microbianos**

Parte del aprovechamiento holístico para mantener el aseguramiento de la calidad se deben tratar con el monitoreo microbiano ambos en el laboratorio animal y sus ambientes.

Monitoreo microbiano de animales vivos: Procedimientos específicos usualmente enlistan los patógenos de los cuales los animales deben estar libres. El estado microbiano de los animales puede cambiar al tiempo en que se reciben.

Generalmente toma de 10 a 14 días para que un animal desarrolle una respuesta inmune al agente. Sin embargo, los animales probados como negativos para anticuerpos contra patógenos, dos o tres semanas después de haber llegado a las instalaciones se considera que se han producido y embarcado sin contaminación. Muestras tomadas proporcionan información sobre el estado de los animales dos semanas antes del embarque. Muestras tomadas de 4 a 6 semanas después nos dan información de los agentes que posiblemente adquirieron durante el embarque. En conclusión, desde luego, se da por hecho la inmunocompetencia de los animales; por eso, animales jóvenes o inmunodeficientes no deben muestrearse con propósitos de monitoreo microbiano. Debido a que toma tiempo a los animales infectados infectar a otros en la colonia, la morbilidad de algunos agentes no se desarrolla instantáneamente.

Cuando se observa evidencia de exposición pasada o presente a un particular tipo de organismo, se puede realizar un muestreo serológico. Esta técnica es rápida, efectiva y económica especialmente con los virus.

La frecuencia en las tomas de muestras dependen de:

- . Sensibilidad de la prueba.
- . Importancia relativa del agente.
- . Uso común del equipo entre diferentes grupos de animales.

- . Exclusión de animales salvajes.
- . Separación mecánica (cuartos, jaulas y aisladores).
- . Frecuencia de introducción de animales nuevos.
- . Naturaleza y porosidad de las barreras.
- . Naturaleza y virulencia del agente.
- . Grado de aseguramiento requerido en proyectos que usan animales. (por ejemplo, la presencia del agente de Riley (LDHV) en estudios basados en concentraciones de la enzima lactato deshidrogenasa puede ser totalmente aceptable).

Lo comercial es que las muestras se tomen una vez cada seis semanas para agentes detectables serológicamente. ¿Cuántos animales deben muestrearse? El tamaño de la muestra se determina con la siguiente fórmula:

$$\text{Tamaño de la muestra} = \frac{\text{Log}_e (1.0-C)}{\text{Log}_e (1.0-M)}$$

**Tabla 8.1** Número de animales para ser muestreados para detectar al menos un virus infectante en una colonia de 100 o más animales con un nivel de confianza del 95%.\*

Morbilidad esperada (%)	Tamaño de la muestra	Morbilidad esperada (%)	Tamaño de la muestra
80	2	25	11
70	3	20	14
60	4	15	19
50	5	10	29
40	6	5	59
35	7	1	298
30	9		

\* Modificación de Charles River Bulletin, Winter, 1990.

Donde C es el nivel de confianza expresado como una fracción decimal (por ejemplo, 95% confianza =  $> 0.95$ ), y M es la morbilidad esperada por los agentes. [Para más virus en una población cerrada una morbilidad de al menos 30% puede ser asumida ( $30\% = > 0.30$ )] Tabla 8.1.

**Animales Centinelas:** los animales centinelas son alojados en asociación directa o indirecta con los animales en estudio. Bajo ciertas circunstancias ellos son parte esencial de un programa de aseguramiento de la calidad. Por ejemplo, están necesariamente en estudios en los cuales la introducción del muestreo debe constituir una variable inaceptable, en estudios de animales muy jóvenes y en estudios en animales inmunodeficientes.

Con considerar la especie, línea y género, los animales centinelas deben asemejarse tanto como sea posible a los animales en estudio. Deben ser siempre inmunocompetentes y libres de los agentes bajo estudio para ser seleccionados como centinelas. Para asociación directa, los centinelas se alojan en jaulas que contengan cama mezclada con algo de cama de jaulas de animales en estudio. Esas jaulas no se deben cubrir con filtros u otro equipo de microaislamiento. Las cajas deben colocarse en varios sitios en el cuarto, preferentemente en los anaqueles más bajos. Deben moverse a otras posiciones frecuentemente tanto como el cambio de aire pueda muestrearse de muchos sitios. Los agentes específicos para los cuales los animales son examinados en una colonia de conejos SPF.

Mientras ésta lista es típica, es solo un ejemplo. Cada equipo de investigación, debe decidir por el mismo los microbios específicos que se necesitan examinar.

Para monitorear animales centinelas deben dejar un periodo de tiempo para adquirir el agente microbiano en cuestión y desarrollar una respuesta inmune, entoces se puede usar un método apropiado para monitorear el agente.

**Monitoreo Microbiano Del Ambiente:** Los datos obtenidos de un programa de monitoreo microbiológico en un ambiente animal, puede ayudarnos a desarrollar una guía para alcanzar niveles de limpieza y encontrar maneras para incrementar la eficiencia de las actividades. Esos datos pueden informar al personal sobre la importancia de lo establecido, procedimientos efectivos de limpieza y ayudar a motivarlos a seguir esos procedimientos. Esos datos además proveen una base de información de niveles de contaminación, además facilitan el uso de comparaciones para determinar el estado de contaminación.

Como otros aspectos de aseguramiento de la calidad, el nivel de muestreo microbiológico del ambiente y las técnicas usadas para obtener esas muestras dependen de numerosos factores. A continuación están algunos procedimientos típicos de monitoreo ambiental. Para probar el estado microbiano de superficies, se llenan platos Rodac con 16.5ml. de agar tripticasa soya (TSA) con lecitina y polisorbato como neutralizante. Los platos se presan

contra la superficie a probar. Se deben probar un mínimo de 15 sitios por cuarto y registrar la localización de cada uno. Después incubar los platos a 37 C/24hrs; el número de colonias de cada plato se cuenta y reporta como N unidades de colonias formadoras de colonias (CFUs).

**Tabla 8.2 Enfermedades- Agentes causales que deben estar ausentes en una colonia de conejos SPF.**

Clasificación General del agente.	Tipo de Agente Específico.
Ectoparásitos	Mites Dermatofitos
Endoparásitos	Coccidia Helmintos <i>Eperythrozoon cuniculi</i> <i>Toxoplasma gondii</i>
Virus	Rotavirus Parvovirus
Bacterias	<i>Pasteurella Sp.</i> <i>Bordetella Sp.</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Yersinia Sp.</i> <i>Francisella tularensis</i> <i>Salmonella Sp.</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Clostridium difficile</i> <i>Clostridium spiriforme</i> <i>Mycobacterium sp.</i> <i>Treponema cuniculi</i> <i>Bacillus piliformis</i>

Durante varios pasos de los procedimientos de limpieza, la actividad germicida de las soluciones detergentes-desinfectantes se evalúan usando la prueba del agua trapeador y cubeta. Para llevar a cabo esas pruebas, muestras de la solución del trapeador y la cubeta son colectadas primero asepticamente, después preparar la solución, sumergir el trapeador y sacarlo afuera (repetirlo 3 veces), y finalmente trapear el cuarto. Las muestras de 0.1 ml son colocadas en cajas de Petri que contienen 20 ml de TSA con neutralizantes apropiados. Estas pruebas se repiten por triplicado en todas las cajas de Petri y se incuban a 37° C/48hrs. El conteo de CFU se expresa como promedio de las tres cajas inoculadas de cada sitio del muestreo. La contaminación presente en el trapeador antes de usarse se estima cortando una pulgada del hilo (usando tijeras y pinzas estériles) del trapeador y ponerlo en 10 ml del caldo nutritivo. Después el caldo se agita vigorosamente, muestras de 0.1 ml se diseminan por encima y por triplicado.

La prueba de poder de eliminación puede usarse para checar la actividad germicida de las soluciones desinfectantes utilizadas. Esta prueba se realiza para transferir cultivos puros con organismos recubiertos con caldo nutritivo e incubarlos a 37° C/18 hrs. Para un tubo de prueba esterilizado conteniendo una muestra de 0.5 ml de solución desinfectante y de limpieza y se le agrega 0.2 ml del cultivo de organismos de prueba. Después de un periodo de contacto de 5 y 10 minutos, 1.0 ml de la mezcla de organismos son removidos y mezclados en 10 ml de caldo nutritivo. Una muestra de 0.1 ml de este caldo nutritivo entonces se siembra en una caja de Petri con 20 ml de TSA con neutralizantes apropiados. Un control se prepara agregando 0.2 ml de cultivo de organismos a un tubo de prueba que contenga 5ml de agua usados para diluir la solución de limpieza y desinfección. Este tubo de prueba se incubaba a 37°C/48hrs y entonces se determina el número de CFUs.

Métodos físicos para prueba, como cintas para autoclave y papel tratado químicamente, son usados para determinar si un artículo ha sido adecuadamente esterilizado. Esos indicadores muestran, por ejemplo, que el artículo ha sido esterilizado y sometido a una temperatura mayor de 125°C por un periodo de tiempo mayor de 10 minutos. Un método de prueba puede revelar condiciones unicamente en el sitio de prueba: la cinta sensible fuera de un paquete quirúrgico, revela las condiciones dentro del paquete. Los papeles químicamente tratados colocados en medio del paquete son más útiles porque indican las temperaturas en medio y en la superficie del paquete, pero no indican las condiciones en el centro del pellet de alimento. Para checar la efectividad de un procedimiento de esterilización, el papel no debe llevar esporas de *Bacillus sterothermophilus* (una bacteria no patógena, termofílica, gram (+)) dentro de los paquetes. Los sobres se colocan en medio de las cargas más densas y largas. Después de completar la esterilización, los desechos son asepticamente transferidos a un medio líquido, como caldo tioglicolato, e incubado a 56°C por 21 días. El crecimiento bacteriano puede interpretarse como evidencia de que la



esterilización fué mal realizada. El procedimiento no puede determinar la remoción de aire en un 100%, o no tener una presión adecuada de vapor, o puede no correr el tiempo suficiente. El problema además puede ser una combinación de esas deficiencias.

Como con autoclaves, hay métodos físicos para monitorear la efectividad de los lavadores de jaulas. Un mecanismo de monitoreo es una cinta de plástico adhesiva que cambia de color plata al negro a  $82 \pm 1^\circ\text{C}$  después de una exposición de 13 segundos. El adhesivo no se afecta por el calor, puede colocarse en la superficie de la jaula marcándolo como identificación y almacenado como un registro permanente. Las cajas lavadas por cada trabajador deben ser monitoreadas bacteriológicamente. Para ayudar a asegurar que el lavado de cajas sea siempre hecho apropiadamente, los días y horas para el monitoreo deben ser variados. Como parte del procedimiento del monitoreo, se usa algodón estéril para coleccionar especímenes de las esquinas y grietas de las cajas. Los especímenes se colocan en caldo nutritivo. Las superficies pueden monitorearse con platos Rodac que contengan TSA o TSA con sangre de borrego. Tan pronto como las cajas se sequen, se toman las muestras. Los gavinetes pueden monitorearse de la misma manera. El algodón se agita en el caldo nutritivo para distribuirlo apropiadamente. La caja de Petri se incuba a  $37^\circ\text{C}/48\text{hrs}$ . y entonces el número de CFUs por pulgada cuadrada puede determinar. Un trabajador está trabajando satisfactoriamente si el muestreo de las cajas es de 50 CFUs o menos por pulgada cuadrada.

Algunos patógenos entéricos están presentes en el ambiente del laboratorio, pueden encontrarse en las botellas de agua usadas. Para muestrear *Salmonella*, *Shigella* o *Pseudomonas*, se inoculan de 0.1 ml en cajas de Petri con agar Citrato deoxicolato. Se incuban a  $37^\circ\text{C}/48\text{hrs}$ . y se verifican las características de las colonias.

Además deben monitorearse las botellas de agua limpias. Muestrear tan aleatoriamente como sea posible, seis botellas que deben ser seleccionadas de cada área. La fecha y localización en la cual se tomaron las muestras debe registrarse. Para determinar el número más probable (MPN) de bacterias coliformes, una serie de tubos de pruebas conteniendo Caldo MacConkey (o medio similar), con un rango de volúmenes para muestras de agua. El agua clorinada no debe mostrar más de una bacteria coliforme por 100 ml de agua. En el monitoreo de agua de sistemas automáticos, las muestras se coleccionan de las válvulas en contenedores estériles. Las muestras deben incluir el chorro inicial, así como el de la mitad. Las muestras son probadas por el MPN de bacterias coliformes por 100 ml de agua. Algunos usuarios de sistemas automáticos reportan un estándar de potabilidad aceptable de 100 bacterias coliformes por 100 ml de agua no tratada. Periódicamente se debe perfilar el contenido microbiano del aire en el ambiente del laboratorio animal. Para realizar esto, cajas de Petri con agar sangre o agar Sabouraud se exponen al aire minutos. Algunas de las cajas de Petri deben colocarse en el piso y otras sobre las tapas de las jaulas.

El agar sangre se incuba a 37°C/18 horas, el agar Sabouraud a temperatura ambiente (a aproximadamente 22°C) por cinco días. El CFUs se cuantifica, se aísla y se identifican los organismos.

Grandes volúmenes de aire pueden ser monitoreados usando un mecanismo especial que saca el aire a través de filtros que retienen las partículas mayores de 0.2 micrones o 0.45 micrones, dependiendo de cual filtro se use. Las muestras se toman del filtro y se inoculan en un medio nutritivo adecuado. Después de una incubación apropiada el crecimiento bacteriano total o el tipo específico de crecimiento bacteriano se enumeran.

El alimento, tanto molido y suplementado por la industria de animales de laboratorio, refleja la historia microbiológica de sus ingredientes y proceso. Pellet para ratón o rata es una copia microbiana que contiene representantes del suelo, manos humanas, insectos, heces de los animales, pelos y polvo así como leche en polvo y huevo en polvo usado en la dieta. Afortunadamente, muchos de esos microbios mueren durante el procesamiento pero no todos. Si un protocolo requiere una total ausencia de microbio en el alimento, la dieta debe esterilizarlo en el mismo lugar. Sin embargo, si la ausencia virtual es aceptable, puede considerarse la dieta irradiada. Estimar el número de bacterias coliformes por gramo de dieta es un estudio usual que puede ser realizado en alimento no esterilizado. Para llevar a cabo un estudio, se pesa una muestra (por ejemplo, un gramo) y se homogeiniza en una mezcladora estéril con 100 ml de agua estéril fría.

Diluciones decuple seriadas se hacen agregando un ml del homogeneizado a 9 ml de agua estéril, mezclarlo bien y transferir un ml de esta solución a otro 9 ml de agua estéril. La dilución debe continuar de esta manera hasta que haya seis tubos de prueba conteniendo un rango de diluciones de 1/10-1/10 donde 1/10 es el homogeinizado sin diluir es una dilución 1/100,000. 1ml. de cada dilución se transfiere en una caja de Petri con agua McConkey, extender el inóculo, e incubar a 37°C por 18 horas. El número de CFUs en la caja de Petri de 200 o menos colonias entonces se contabiliza, y el número de bacterias coliformes por gramo de dieta se calcula. Esas colonias bacterianas son fermentadoras de lactosa, tienen forma circular, borde convexo y son aproximadamente de 2-3 mm de diámetro.

Un estudio similar del estudio de cama puede realizarse, pero con una muestra mayor (aproximadamente 40 gramos) y con un rango menor de dilución (10 -10 ). Existe en el mercado una cama de desechos de maíz irradiado la cual puede usarse cuando la virtual esterilidad es aceptable.

Después de todo el monitoreo externo, representa el primer recurso para detectar una infección en los animales de laboratorio. Técnicos e investigadores deben reconocer los cursos de los organismos patógenos, no cuando están clinicamente enfermos, si no todo el tiempo. Cada instrumentación en la cual los animales de laboratorio se usan, deben tener programas de supervisión médica que reconozcan directamente no solo la salud del personal sino

además la de los animales. Tal como el programa debe, como mínimo, incluir exámenes de tuberculosis, Salmonella y Shigella, dermatofitosis y una condición específica de especies, por ejemplo, la influenza. Muchos organismos capaces de confundir la investigación pueden estar alojados en las mucosas del humano por periodos considerables de tiempo. En respuesta, algunos laboratorios requieren que el trabajador transfiera una colonia convencional a una colonia SPF para confrontar la colonia convencional por 10 días o más antes de seguir con el resto de las colonias SPF. Un laboratorio de gobierno requiere que sus trabajadores acuerden no tener mascotas. Un programa establecido de higiene personal debe ser colocado y reforzado rigurosamente.

#### **Aspectos Nutritivos**

Cuando proporcionamos una dieta esterilizada, la concentración de tiamina debe monitorearse porque los productos de descomposición de la tiamina calentada al vapor (oxitiamina) son antimetabolitos que bloquean el mecanismo normal de la Tiamina. Comparando la suma residual de Tiamina después de esterilizar, con la suma original presente debe someterse a una proporción de 1:3-1:5. Si la proporción excede este rango y llega 1:8 a 1:10, el animal comenzará a mostrar signos del síndrome de deficiencia de tiamina.

Si la tiamina residual excede las recomendaciones diarias (RDA), las deficiencias ocurren por que el antimetabolito bloquea el metabolismo de la tiamina. Si se sigue la esterilización, la tiamina debe presentarse en cantidad suficiente para proveer el RDA en una proporción aceptable en algunos productos descompuestos. No es suficiente agregar más tiamina antes de esterilizarlo.

Alimentos Irradiados: Algunos fabricantes proveen alimento que ha sido tratado por irradiación, típicamente con cobalto 60 este tratamiento reduce los microbios visibles a menos de 50 CFUs por gr de alimento. Este tipo de dieta provee un alto grado de seguridad de que no se introducirán organismos patógenos al animal. La irradiación produce mucho menos degradación de nutrientes que la esterilización en autoclave. No produce cambios visibles en la textura o dureza de la dieta, mientras que en el autoclave se produce comida dura que algunas líneas de ratones no pueden comer. Si se necesita una dieta libre de patógenos temporalmente el consumo de energía y espacio en cuanto a costos pueden reducirse usando comida irradiada en lugar del autoclave.

Alimentos Certificados: Quienes deben cumplir con el GLPs e individuos que trabajan en toxicología necesitan asegurarse que los contaminantes químicos no se presenten en cantidades que excedan los niveles aceptables. Esos químicos deben evaluarse en laboratorios de alimentos animales para determinar sus concentraciones. Una respuesta a esta necesidad ha sido la disponibilidad comercial de alimento certificado. Cada bolsa de alimento se muestrea para determinar la composición de la muestra de cada lote fabricado. Esas muestras se analizan para metales pesados, aflatoxinas, hidrocarburos clorinados, organofosforados y

nutrientes especificados por el fabricante. Después de determinar que la concentración de sustancias tóxicas es menor que los niveles máximos aceptables, la comida se certifica y se envía para su venta. Cada bolsa de alimento se acompaña de un certificado que enlista los contaminantes actuales y su concentración. Estas dietas llenan satisfactoriamente los mandatos de la GLPs.

Cálculo correcto de la cantidad de alimento: Si los animales son alimentados ad libitum, es usual conocer cuanto consumirán y cuanto consumen. Para algunas especies y para ciertas dietas dobles, la cantidad de alimento que consumirán los animales deberán considerar que los animales desperdiciarán la mitad de ella. Esto es especialmente aplicable cuando se usan presupuestos para alimentar ciertas líneas de ratones y ratas.

Cuando se usan substitutos de leche y cuando se alimenta a mano o en comedero a los animales, actuando con justicia, ¿cuanta comida es suficiente?.

Para calcular cuanto es suficiente, primero es necesario determinar la energía metabolizable que necesitan los animales. Un recurso excelente para esta información son los Requerimientos Nutricionales De Alimentos Domésticos publicados por el cocilio Nacional De Investigación. De esta manera se determina que un conejo adulto en mantenimiento requiere 67 Kcal/Kg de peso. La energía metabólica (ME) contenida en la dieta se calcula como sigue (el cálculo actual produce el valor en energía fisiológica, lo cual no es lo mismo ME pero está relacionado para estos propósitos):

1. El análisis aproximado se encuentra: Esta información está usualmente sobre el costal de alimento o puede ser una etiqueta.
2. La fracción decimal de nutrientes en la dieta semúltiplica por 4 para proteína, 9 para grasa y 4 para carbohidratos para dar el número de Kcal. en un gramo de alimento. Usando la dieta del conejo citado como ejemplo, estos cálculos muestran que la dieta del conejo contiene 16.2% proteína, 2.5% grasa y 50.5% carbohidratos.

Componente de la dieta		Fracción decimal		Kcal/g
Proteína	16.2%	0.162 x 4	=	0.648
Grasa	2.5%	0.025 x 9	=	0.225
Carbohidratos	50.5%	0.505 x 4	=	2.020

3. Los componentes se suman para determinar el contenido ME del alimento en Kcal/g de alimento: suma = 2.893Kcal/g
4. El peso corporal animal en Kg se determina: asumir que el conejo en este ejemplo pesa 3 Kg.

5. El peso corporal en Kg se multiplica por las necesidades de ME en Kcal/Kg para obtener las necesidades diarias de ME de este animal:  $3 \text{ Kg} \times 67 \text{ Kcal/Kg} = 201 \text{ Kcal/Kg/día}$ .

6. La necesidad diaria se divide por el contenido de ME del alimento para obtener la suma que se proporcionará diariamente:  $201 \text{ Kcal/Kg/día} \text{ dividido } 2.893 \text{ Kcal/g} = 69.5 \text{ g}$  o redondeado a 70 g.

Para que este conejo hipotético reciba los porcentajes requeridos de proteína, grasa y carbohidratos en su dieta diaria, debe consumir 70gr. de esta dieta particular cada día.

**Suplementos:** Suplementos dietéticos o tratamientos no requeridos por el protocolo o cuidado veterinario rutinario no deben estar en el alimento de los animales de laboratorio. Si esto se permite, esos animales usualmente consumen algunos suplementos en cantidades copiosas, y esto puede introducir nuevas variables como la dilución de la dieta y el cambio del balance nutricional de la dieta. Vitaminas y minerales como suplemento deben además formar parte del protocolo. Esas variables introducidas niegan grandemente un esfuerzo para mantener un programa de aseguramiento de la calidad. El uso de tratamientos como recompensa tiene las mismas cosecuencias que la alimentación con suplementos. Los suplementos y tratamientos están siendo usados como medio para enriquecer el ambiente para primates no humanos. Sin embargo, esos materiales se cuentan en el protocolo. En circunstancias que requieren suplementar (GLPs txicología) se deben examinar bien los tratamientos, algunos como frutas secas o frescas, nueces y dulces procurando que estén libres de contaminantes químicos. Si la dieta del animal está siendo monitoreada, la contribución de esos suplementos debe evaluarse.

**Avastecimiento de Agua:** Un programa de inspección debe estar puesto y en operación para asegurar que los bebederos automáticos no estén tapados, sin fugas y que proporcionen una cantidad apropiada de agua. Este tipo de tareas es mejor que la realicen regularmente los técnicos asignados a cada cuarto.

### **Aspectos Climáticos**

El monitoreo de la temperatura, humedad relativa y ventilación en el ambiente de los animales de laboratorio, fué revisado en la unidad 4 de las secciones I y II de esta serie de manuales. Sin embargo, hay algunos aspectos adicionales al clima del laboratorio que es importante que los técnicos conozcan.

**Ventilación:** La guía ahora sugiere que los parámetros de ventilación sean monitoreados con el microambiente. Se ha demostrado que la temperatura elevada, humedad y concentración de amoniaco, pueden incrementar la susceptibilidad de los roedores o infecciones, tóxicos y otros agentes. La reducción de la ventilación trajo el uso de filtros sobre las cajas de microaislamiento que refuerzan la necesidad de monitorear la

temperatura y humedad relativa de las cajas. Esos parámetros varían directamente con el tiempo que pasa desde la última limpieza de cajas, tanto que el monitoreo debe ser continuo o debe pasar por un mínimo ciclo de limpieza completo de cajas.

Ruido: La exposición continua a niveles acústicos mayores de 85 dB puede tener efectos auditivos y no auditivos (algunos como eosinopenia) en los roedores. Puede producir el incremento de la presión sanguínea en primates no humanos. Para ayudar a prevenir el ruido excesivo en los ambientes, los animales ruidosos como, perros, cerdos y primates no humanos, deben alojarse lejos de otros animales.

Humanos que trabajan con animales ruidosos se estresan por el ruido y resulta benéfico utilizar protección para sus oídos. Las personas con daño en el oído se estresan menos en ambientes ruidosos.

Los radios, cuando se tocan a bajo volumen producen un ruido de "colchón", que absorbe significativamente algunos de los ruidos y sonidos súbitos asociados con las tareas rutinarias. Sin embargo técnicos y otros deben evitar usar radios con audífonos y tocacintas por que mientras los usan se privan de un medio excelente para monitorear el ambiente de laboratorio- El oído del técnico-.

Ruidos súbitos pueden reducir la fertilidad en roedores o traer secuestros audiogénicos en algunas líneas de ratones. Pruebas de la alarma contra incendios presentan un problema en estos casos. Algunas soluciones propuestas incluyen el uso de sonidos de baja frecuencia (450 Hertz), los cuales son pensados para estar debajo del campo auditivo de muchos roedores pero completamente inaudible para los humanos. Algunas instalaciones utilizan luces centelleantes rojas de larga amplitud de onda, las cuales no son visibles para muchos roedores pero sí para los humanos. En general una manera efectiva para monitorear los sonidos en el laboratorio es checar los niveles de un rango de frecuencias y uno irregular.

Iluminación: Los niveles de foto intensidad de la luz mayores de 75 lámparas causan daño en la retina de algunos animales albinos. Los niveles de la luz de 30 lámparas pie en un metro del piso son adecuadas para muchas rutinas de cuidado. La intensidad de la luz debe monitorearse a intervalos regulares, rotando particularmente las diferencias de intensidad entre los topes opacos y claros en las jaulas, entre el frente y la parte trasera de las cajas y entre jaulas sobre el tope y el fondo de las tapas de las cajas. La intensidad de la luz en esas jaulas debe ser tan uniforme como sea posible. Un sistema de control de luces, provee a los animales con un ciclo día-noche que se elija; 14hrs de la luz y 10hrs de oscuridad es el ciclo más usado. El valance del color de la luz se debe asemejar a la luz solar. Esto permite hacer observaciones de las condiciones verdaderas de los ojos de los animales y otras partes del cuerpo de las cuales el color puede ser un indicador importante.

## Aspectos de Espacio

Los principios y tipos de jaulas se revisaron en el capítulo 4 sección II de esta serie de manuales y las recomendaciones detalladas de espacio para las jaulas en la Guía. Los técnicos supervisores son los responsables de verificar que las recomendaciones de espacio para las jaulas indicadas en la Guía sean seguidas. Las jaulas pueden llenarse cuando los animales jóvenes colocados en ellas crecen. Además, las jaulas deben ser de tamaño apropiado cuando se introducen los animales para cruzar, pero pueden llenarse cuando en la caja están además las camadas y destetados.

El alojamiento de animales pequeños debe contener un número adecuado de animales en cada compartimento. Durante el tiempo de calor se deben reducir los contenedores y la población de estos y además deben tener filtros. La emisión del embarque de contenedores con la población, debe dirigirse en la procuración de las especificaciones y al recibirse, el departamento de personal deben monitorear que los embarques cumplan con estas especificaciones.

## Inventarios

El tiempo de manejo es la mayor responsabilidad del técnico. Los inventarios de trabajo y mantenimiento fueron discutidos largamente en el primer capítulo de este manual. Copias de los inventarios deben incluirse como parte del programa de aseguramiento de la calidad. Las copias deben iniciarse por el supervisor apropiado del departamento para indicar una satisfacción completa. Escribir los inventarios para reemplazar equipo y limitar la vida de anaqueles, para la recalibración de instrumentos, debe incluirse en un programa de aseguramiento de la calidad, como medio para asegurar una separación adecuada de enfermedades potenciales, alejar a los trabajadores de colonias susceptibles, inventarios para vacaciones y eliminar enfermos deben incluirse en un programa de aseguramiento de la calidad.

En muchas instituciones la supervisión computarizada de inventarios y obtenerlos impresos cada mañana ayuda a asignar el trabajo a los trabajadores. Si los códigos del supervisor no se introducen en la computadora para indicar que las tareas fueron realizadas satisfactoriamente, señales de precaución aparecen en el inventario al día siguiente para avisarle al personal que esas tareas en particular deben ser completadas.

## El Acceso a la Colaboración

"¿Quién asegura el aseguramiento de la calidad?" es una pregunta que se hace en los laboratorios de investigación biomédica. Un programa de asistencia mutua es una forma de facilitar la investigación y puede indicar que los datos de aseguramiento de la calidad son precisos. Por ejemplo, un diagnóstico de un programa de aseguramiento de la calidad, abarca pruebas de aislamiento bacteriano, pruebas de sensibilidad a antibióticos y evaluación

serológica; se han establecido alrededor de 20 diagnósticos de laboratorio. Para otros tipos de pruebas pudiera buscarse un arreglo con otras instalaciones, un laboratorio externo u otras instalaciones locales con programas de aseguramiento de la calidad con una generación de datos similares. Por último informar, cuidar, educar y trabajadores ecépticos son las mejores garantías del aseguramiento de la calidad.



## CAPITULO NUEVE

### SEGURIDAD DEL PERSONAL DEL BIOTERIO

Una importante meta que se debe mantener en mente durante el manejo o la exposición de los animales de laboratorio a desechos peligrosos, es la prevención de enfermedades relacionadas con esta exposición. La prevención se puede lograr a través de implementar programas de salud ocupacional o de seguridad en el trabajo. Los programas de seguridad en el trabajo pueden ayudar a lograr el cumplimiento cabal de las normas federales, así como de las guías locales y regulaciones, como las establecidas por organizaciones como la Asociación Americana para la Acreditación del Cuidado de los Animales de Laboratorio (AAALAC). Los bioterios deben de cumplir ciertas normas de Seguridad Ocupacional y de Salud, dictadas por la Administración de este propósito (OSHA). Así mismo también deben de cumplir con los reglamentos de Protección para Riesgos en Investigación donde se utilizan agentes peligrosos (OPRR), algunos bioterios sumamente especializados, también tienen que llenar algunas regulaciones de la Comisión de Energía Nuclear (NRC) para poder manejar adecuadamente isotopos radiactivos y en algunos casos también deben cumplir regulaciones de la Agencia Protectora del Ambiente (EPA) la cual ha sido diseñada para implementar la Ley para la Protección y Conservación de los Recursos (RCRA).

#### SALUD DEL EMPLEADO

La educación es un prerequisite para un efectivo programa de salud y de protección en el trabajo. El papel del tecnólogo en la educación y entrenamiento de sus técnicos es esencial. Los instructores pueden tener ciertos conocimientos especializados, pero el tecnólogo es el que tiene la experiencia directa y el que puede ayudar a otros técnicos a comprender la importancia de la información específica que debe ser enseñada durante un curso. La educación que deben recibir los técnicos que van a estar en contacto con los animales de laboratorio debe enfatizar los siguientes puntos:

1. Efectuar regularmente exámenes médicos.
2. Se deben de considerar precauciones especiales cuando los técnicos son mujeres embarazadas o individuos alérgicos.
3. Mantener continuamente información relacionada a la presencia de peligros potenciales como pueden ser mordeduras de animales, picaduras con agujas, así como uso de radioisotopos.
4. Zoonosis.
5. Higiene personal.
6. Acciones preventivas, como la administración apropiada de vacunas y el evitar contacto innecesario con los animales.

### **Exámenes Médicos**

El principal objetivo de un exámen médico en los empleados, es asegurarse que no exista predisposición a enfermedades o factores de riesgo como pueden ser, la presencia de alergias o individuos que tengan un sistema inmune deficiente, lo cual podría comprometer la salud de un individuo cuando se encuentra trabajando en el bioterio. Los exámenes médicos deben programarse antes de que el empleado comience a trabajar y subsecuentemente por lo menos una vez al año.

### **Alergias Relacionadas con los Animales de Laboratorio**

La alergia relacionada con los animales de laboratorio (LAA) es una de las enfermedades ocupacionales más frecuentes en el personal que trabaja con animales de laboratorio. Son tan frecuentes las alergias en el personal, que se tiende a ignorarlas o menospreciarlas y considerarlas como un problema trivial. Sin embargo, esto está muy lejos de ser un problema trivial, ya que aproximadamente el 30% de las personas que trabajan con animales de laboratorio desarrollan algún síntoma de alergia. En los Estados Unidos se estima que pueden existir más de 90,000 trabajadores en riesgo.

Los síntomas de una alergia asociada con los animales de laboratorio son controlables usualmente, pero sin medidas preventivas adecuadas se puede convertir esto en un problema severo. Los síntomas varían dependiendo de la ruta de exposición a los alérgenos. Inhalación de alérgenos resulta o produce estornudo, irritación de los ojos y asma. Reacciones por contacto directo con la piel, pueden ocasionar comezón e inflamación local de la piel. Del 5% al 9% de la gente que trabaja con animales de laboratorio, deja el trabajo temporalmente o permanentemente por causas de alergias, de esta cantidad 34% a 48% de todos los trabajadores han tenido en algún momento de su vida ocupacional una alergia debida a animales de laboratorio. Los factores desencadenantes de una alergia a animales de laboratorio, dependen de una base o predisposición genética, la potencia del alérgeno y factores relacionados con la exposición. Las personas que han padecido alergias a partir de alérgenos no animales, es más probable que puedan sufrir o desarrollar una alergia asociada a animales de laboratorio. El 50% de los individuos alérgicos a los animales son alérgicos a dos o más tipos de animales. El perfil clásico de un caso de alergia asociado a animales de laboratorio, es el de un hombre y una mujer entre los 23 y 32 años de edad que desarrollan sensibilidad a uno o más tipos de animales de laboratorio en los primeros tres años de trabajo con ellos. Durante muchos años, en los primeros estudios relacionados con alergias, los investigadores creían que los alérgenos eran principalmente detritos de los animales, sin embargo, estudios más recientes han revelado que los alérgenos más importantes son proteínas provenientes de la saliva y orina.

Para lograr la meta de una restringida exposición o nula exposición a alérgenos, solo se puede lograr a través de un

escrupuloso uso de las técnicas de manejo de los animales. En las alergias asociadas a animales de laboratorio la principal forma de sensibilización se debe a la exposición de partículas inhaladas. El uso de una máscara es por lo tanto un mecanismo protector indispensable (Fig 9.1). El uso de guantes y el lavarse las manos cuando se maneja a los animales ayuda a prevenir reacciones localizadas de la piel. El utilizar guantes quirúrgicos o batas de laboratorio en los cuartos de los animales, o cuando se trabaja con los animales ayuda a reducir la exposición. Estos artículos deben ser lavados o desechados después de cada exposición. El manejar o utilizar estos artículos después de haber dejado el cuarto de los animales hace útil su habilidad para protegernos. Otras medidas preventivas incluyen el uso de equipo especial que evita el escape de alérgenos; por ejemplo, cajas con filtros en las tapas y gabinetes de seguridad biológica. El flujo de aire laminar con presión positiva, filtrado laminar en los anaqueles, así como la presencia de sistemas de ventilación independientes en los cuartos con filtros HEPA en las salidas del sistema, ayuda a reducir la cantidad de alérgenos en el aire. Así mismo el cambio frecuente del aire por aire fresco, sistemas de lavado automático de las cajas y el uso de materiales de cama que produzcan poco polvo, también ayudan a eliminar los posibles alérgenos inhalables.

El tratamiento para las alergias asociadas a animales de laboratorio, incluye la terapia con algunas drogas como antihistamínicos (con o sin descongestionantes) y el uso de inhaladores dosificadores contra el asma. El tratamiento profiláctico con aerosoles de corticosteroides, cromalina de sodio y la inmuno-terapia, frecuentemente disminuyen la sensibilidad de los sujetos e incrementan las posibilidades del bloqueo por anticuerpos.

### **Registros de Exposición a Alérgenos**

Siempre se deben de registrar todos los incidentes relacionados con mordeduras de animales, piquetes con agujas, contacto directo o con salpicaduras provocadas por agentes químicos peligrosos o radioisótopos. Generalmente la persona designada como el oficial de salud debe llenar una hoja o reporte de incidentes. En los bioterios puede que no exista este nivel de personal administrativo especializado. En estos bioterios la responsabilidad es relegada en el supervisor o tecnólogo quién registrará estos incidentes y remitirá a la víctima hacia el servicio médico correspondiente. La institución debe desarrollar manuales de procedimientos para el manejo de situaciones traumáticas o posibles transmisiones de infecciones. Por ejemplo, el bioterio debe de escribir los lineamientos para el tratamiento de mordeduras por monos, lastimaduras durante la limpieza, así como también profilaxis antiviral. Estos lineamientos deben ser fáciles de leer y disponibles para todo el personal en riesgo de sufrir estos daños.



**Figura 9.1** Las unidades de filtración en esta máscara previenen a los técnicos de inhalar muchas sustancias tóxicas. Estas máscaras son especialmente útiles para los técnicos que sufren de alergias producidas por animales de laboratorio.

### Zoonosis

En los bioterios donde existen primates no humanos, se deben tener programas regulares para la detección de tuberculosis, para proteger de esta manera a los investigadores y a los técnicos que trabajan con estos animales. El personal femenino que labora como técnico y que se encuentre embarazada, debe ser informada acerca de los peligros potenciales que se encuentran en el trabajo y que pudieran dañar a su producto. Las enfermedades que más frecuentemente están involucradas en estos procesos son la toxoplasmosis, así como también el trabajar con radiaciones ionizantes como los radioisotopos y las maquinas de rayos "X". El personal femenino que no posee inmunidad para la toxoplasmosis, no debiera ser expuesta a gatos u otras especies como ratas que también se sabe pueden ser infectadas.

### Higiene del Personal

En el caso de la exposición a alergenos, el personal debe tomar medidas de protección contra infecciones o exposición a agentes tóxicos, esto se puede lograr con el uso de guantes o batas de laboratorio, máscaras protectoras y filtros, así como también batas desechables. El lavado de las manos y la limpieza, son medidas esenciales después de que se haya trabajado con animales o agentes peligrosos. El comer, beber, fumar o almacenar alimentos debe estar prohibido en los bioterios, así como también en los cuartos y debe de restringirse el uso de estos alimentos a la cafetería o áreas definidas libres de riesgo. Los técnicos deben ser advertidos acerca de las consecuencias peligrosas que tiene el romper estas reglas. Un error muy común es el no quitarse el material de protección, ya sea uniformes o batas que utilizan en el bioterio antes de ir a comer o tomar los alimentos. Este tipo de fallas elimina la utilidad del uso de estas medidas de protección. Los alergenos, los agentes infecciosos, las sustancias químicas y los radioisotopos pueden estar presentes en las ropas o batas que se utilizan dentro del bioterio. El bioterio debe de proporcionar programas de inmunización para proteger al personal de aquellas enfermedades potenciales. El programa de inmunización más recomendable para la gente que trabaja con animales de laboratorio incluye:

1. Tétanos: Todos los individuos que trabajan con animales deben ser inmunizados con toxoide tetánico.
2. Rabia: Los individuos que trabajan con perros o gatos que provienen de la calle, deben de recibir una dosis profiláctica de vacuna antirrábica. El personal que trabaja con animales que pueden ser portadores de la rabia, como los animales que provienen de centros antirrábico o aquellas personas que trabajan con el virus rábico también deben ser vacunadas.
3. Vaccinia: Los investigadores y los técnicos que trabajan con animales que han sido inoculados con el virus de la vaccinia también deben recibir una dosis de vacuna de la vaccinia.

4. Hepatitis B: Investigadores y técnicos que trabajan con muestras de suero, sangre o tejidos provenientes de monos deben de recibir también vacuna contra la hepatitis B.

Muchas otras vacunas están disponibles para la gente que trabaja en áreas especializadas. Ellos pueden ser vacunados contra ántrax, botulismo, cólera, difteria, encefalitis equina (del este, venezolana y del oeste), hepatitis "A", influenza, encefalitis japonesa, sarampión, meningitis meningocócica, peste bubónica, poliomielitis, fiebre Q, rubéola, tularemia, tifoidea y fiebre amarilla. Estas vacunas están disponibles tanto en forma comercial o a través de Centros de Salud.

#### PROTECCION DEL PERSONAL

La protección del personal se puede lograr utilizando los métodos adecuados como son batas de laboratorio, goggles de seguridad, escudos y guantes, así como equipos especiales que pueden ser gabinetes de seguridad biológica por ejemplo. El bioterio debe introducir métodos para el monitoreo de posibles agentes peligrosos tanto biológicos como químicos o físicos, dispositivos para proteger al personal o realizar vigilancia y seguimiento, como es el uso de pequeños discos detectores, así como de docímetros de neutrones o termoluminiscetes. Es muy importante que agentes químicos o de otro tipo, se mantengan alejados de las manos, cara y ropas. Muchas sustancias potencialmente peligrosas, son absorbidas en el cuerpo a través de la piel y por inhalación. Un técnico con las manos contaminadas puede inadvertidamente transferir agentes químicos o tóxicos a su boca y a los ojos. La higiene personal es extremadamente importante. Todo el personal que maneja agentes peligrosos debe lavarse con agua y jabón, haya o no estado en contacto directo el agente con la piel. Estas personas siempre deben lavarse la cara, manos y brazos antes de dejar el bioterio. No existe ningún artículo que pueda proporcionar protección absoluta, sin embargo existe una gran variedad de equipo que puede servir de protección para diferentes tipos de peligros o sustancias peligrosas.

Respiradores: Es importante el uso de los mecanismos o sistemas de respiración cuando se está trabajando con sustancias peligrosas, como pueden ser vapores químicos y gases, los cuales deben manejarse a nivel de bioseguridad 3 o 4. La gente que usualmente tiene problemas alérgicos utiliza respiradores, no únicamente por trabajar con agentes peligrosos o potencialmente peligrosos, sino también porque pueden trabajar con animales potencialmente productores de alergias.

Existen varios tipos de respiradores. El tipo seleccionado depende del tipo y la cantidad del peligro potencial al que será expuesto. Un médico debe determinar si un técnico puede utilizar o no un respirador a un nivel funcional dentro del bioterio. Para que esto sea efectivo y se use legalmente el respirador debe llenar los estándares de la OSHA (las cuales han sido publicadas por el

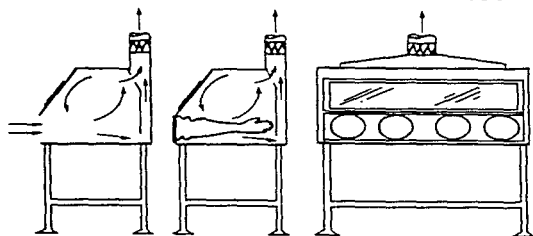
Instituto de Estándares Nacionales Americanos). Para que un respirador funcione apropiadamente es esencial que la máscara a la cual está unido selle en la cara del individuo. Características anatómicas como unos huesos maxilares prominentes o pliegues profundos en la piel, así como la presencia de pelo facial puede interferir con el sello que proporcionan estas máscaras. Los lentes o anteojos, también pueden interferir con el sello. Aún más la idiosincrasia del individuo como una respiración profusa, el masticar o sentimientos de claustrofobia también pueden ocasionar molestias y una tendencia a estarse quitando la máscara. Por lo tanto, antes de asignar a un técnico la tarea que involucre el uso de materiales peligrosos, se debe de evaluar su habilidad para adaptarse al uso de este tipo de equipo protector.

**Protección de los Ojos y la Piel:** Cuando se está trabajando con materiales que pudieran provocar daño a los ojos o lentes de protección, se debe utilizar una máscara similar a la descrita en la figura 9.1, para de esta manera evitar que material extraño llegue a los ojos.

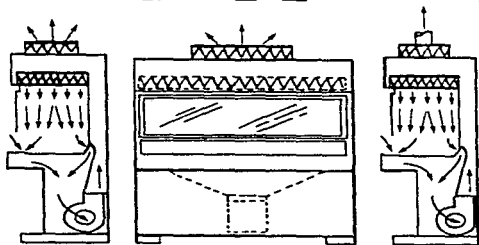
Los guantes sirven como una barrera inmediata en contra de la infección por virus u otros agentes infecciosos, sin embargo, los guantes muy delgados hechos con polietileno o cloruro de polivinilo, son inefectivos para prevenir la contaminación por virus. Los guantes de latex ofrecen una mejor protección en contra de agentes infecciosos, pero no están exentos de fallas, los virus pueden penetrarlos en 1% de los casos.

**Gabinets de Seguridad Biológica:** Existen tres tipos de gabinetes de seguridad biológica. La clasificación está basada en el tipo de protección que proporcionan (Fig.9.2).

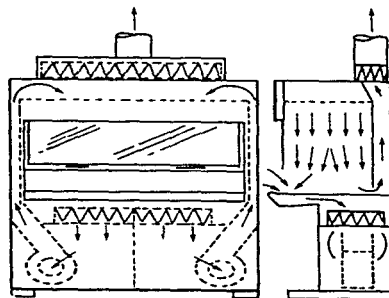
Los gabinetes clase I y II son utilizados con cortinas de aire que crean una barrera. Los gabinetes de clase II se conocen comúnmente como gabinetes de flujo laminar o campanas de bioseguridad. Los gabinetes de clase III usan una barrera física, como pueden ser una caja con guantes para evitar al usuario un contacto directo con los contenidos del gabinete. Los gabinetes de la clase I y II filtran el aire antes de que este sea orientado hacia la superficie de trabajo, y todos los gabinetes de la clase III cuentan con un sistema de extracción del aire con filtros. Los filtros en estos sistemas son de tipo HEPA (filtros de alta eficiencia para partículas en el aire), estos filtros tienen una eficiencia de remoción en el aire de hasta 99.97% de las partículas que son de 0.3 micrómetros de diámetro o más grandes (0.3 micrones es el tamaño más común de las partículas capaces de producir infección). Cuando los filtros se tapan se incrementa la resistencia del aire para moverse a través de ellos, esto ocasiona un decremento en el flujo de aire. El flujo de aire debe por lo tanto ser ajustado periódicamente para asegurar un desempeño adecuado del gabinete. Se requiere que estos gabinetes sean revisados cuando menos una vez al año.



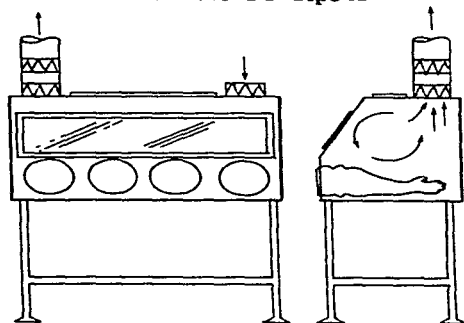
Gabinete Clase I



Gabinete Clase II Tipo A



Gabinete Clase II Tipo B



Gabinete Clase III

Figura 9.2 Una cortina de aire como barrera en los gabinetes clase I y clase II ayuda a contener los riesgos biológicos dentro del gabinete. En los gabinetes clase III un guante de plástico sirve como barrera física evitando que el trabajador esté en contacto directo con los animales, microbios, o materiales contenidos en el gabinete.



Los filtros HEPA no remueven gases que se encuentren presentes en el aire. Estos gabinetes pueden utilizar tanto colectores húmedos o sistemas de absorción, como los denominados TEDA (impregnación de carbono), para coleccionar gases como el radioiodo.

Los gabinetes de flujo laminar vertical u horizontal, usualmente carecen de una ventana frontal. Este tipo de gabinetes únicamente protege la superficie de trabajo pero no al usuario. En estos gabinetes limpios, el aire filtrado es forzado a través del área de trabajo y es directa o indirectamente orientado hacia el usuario. Estos gabinetes ofrecen a los usuarios poca o nula protección contra materiales peligrosos y por lo tanto no deben ser usados en este tipo de trabajo.

Los siguientes lineamientos, si fueran seguidos estrictamente permitirán una utilización segura y eficiente de los gabinetes biológicos:

1. El gabinete debe de estar trabajando continuamente durante todo el procedimiento de trabajo.
2. La ventana debe ser colocada a 20 cm. (si es ajustable) y a 30 m/min. de velocidad el aire.
3. La cantidad de equipo utilizado o almacenado en los gabinetes debe ser siempre la menor.
4. Antes de iniciar el trabajo cualquier cosa que se necesite para los procedimientos debe ser colocada en el gabinete y el aire debe de estar circulando alrededor de unos pocos minutos.
5. No se deben de colocar enfrente o sobre las rejillas de ventilación, ya que esto puede reducir el flujo del aire.
6. Artículos contaminados deben de ser separados de los limpios y de aquellos que van a ser colocados en el gabinete, dado que ellos no han pasado verdaderamente por un sistema de desinfección.
7. Las barreras de aire en los gabinetes no deben de ser modificadas frecuentemente, con rápidos movimientos de las manos o del gabinete.
8. Los contenedores con desechos deben ser colocados siempre dentro del gabinete.
9. Los mecheros no deben ser utilizados en los gabinetes de la clase II, debido a que el aire circula y crea una contracorriente de flujo dentro del gabinete. Esta puede ser una causa de contaminación de la superficie de trabajo o del cuarto y puede incendiar los filtros HEPA.
10. Para aquellos trabajos en que utilizan riesgos biológicos, sustancias descontaminantes y toallas absorbentes, como etanol al 70% o cloros al 10%, debe ser limpiado el gabinete y la superficie de trabajo con etanol o con el agente desinfectante antes de iniciar una nueva sesión de trabajo.

## VALORACION DE RIESGOS

Existen un gran número de factores a considerar, cuando se sistematiza o se categoriza los riesgos a los que puede estar expuestos un técnico en el ambiente de trabajo, estos pueden ser biológicos, radiactivos y químicos. Riesgos biológicos, por ejemplo, agentes infecciosos, virus oncogénicos y DNA recombinante, los dos factores más importantes son las características de los agentes y la infección potencial consecuente. La virulencia del agente, su patogenicidad, su transmisión y la ruta de diseminación son las propiedades que afectan el peligro potencial para el técnico y para el ambiente. Los tipos de procedimientos utilizados con los agentes y las cantidades manejadas también afectan el grado de riesgo. Los agentes infecciosos que producen ligera alteración, de fácil tratamiento y fácil prevención, son enfermedades o riesgos mucho menos peligrosos que los causados por enfermedades severas, o fatales, para las cuales no existe prevención o tratamiento efectivo. Las recomendaciones de los niveles de bioseguridad para agentes infecciosos y animales infectados, así como resúmenes de las características del agente pueden encontrarse en las publicaciones de los Servicios de Salud Humana (HHS), una de estas publicaciones es el libro Bioseguridad en Microbiología y Laboratorios Biomédicos (ver la lista de lecturas complementarias de este mismo capítulo).

Para riesgos radioactivos, como pueden ser radioisótopos, tubos de rayos "X" y microscopios electrónicos, los tres factores más importantes para valorar un riesgo son el tipo de radiación, la dosis y la vida media. Las radiaciones ionizantes consisten en la ionización de partículas directa o indirectamente o la mezcla de ambas. Las partículas ionizadas directamente son partículas eléctricamente cargadas con una Alfa o una Beta partícula, electrones y protones. Las radiaciones ionizantes indirectas no están cargadas, e incluyen radiación Gama y los rayos "X"; ambas tienen características idénticas y difieren únicamente en el método producido de la radiación.

Las partículas Alfa están doblemente cargadas en su núcleo de helio ( $\text{He}^{++}$ ) y son más comunes en la naturaleza. Estas provienen del Uranio y del Radio. Desde el punto de vista de la seguridad las partículas Alfa son relativamente grandes y fáciles de detener por materiales absorbentes como puede ser una hoja de papel o incluso la piel. Cuando se encuentran en la superficie externa del cuerpo no representan ningún riesgo para la salud. Dentro del cuerpo tienen un efecto muy importante debido a que pueden interaccionar con átomos que la rodean, durante los cuales la energía se deposita en pequeños volúmenes, esto podría ocasionar la destrucción de la célula. Las partículas Beta tienen alta velocidad en sus electrones. En los estudios de investigación biomédica las partículas Beta más comúnmente encontradas son las  $^3\text{H}$  (tritium),  $^{14}\text{C}$ ,  $^{35}\text{S}$  y  $^{32}\text{P}$ . La materia está en función de su energía y se refiere a ésta como el rango de la partícula. Las partículas Beta de baja energía como son

$^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$  y  $^{35}\text{S}$  se absorben fácilmente por las capas externas de la piel ( $^{32}\text{P}$  es una partícula Beta de alta energía), pero presentan de alguna manera una mayor amenaza de penetración que las partículas Alfa. Las partículas Beta dentro del organismo, pueden en altas dosis matar a las células. Las partículas Beta también producen formaciones secundarias de radiación denominadas Bremsstrahlung, el cual es un tipo de rayos "X". Esta se produce cuando las partículas Beta pasan a través de materiales donde son acelerados por átomos de esa materia. Las partículas Beta de alta energía, como el  $^{32}\text{P}$ , produce un campo de radiación de Bremsstrahlung en contra del tejido que debe ser protegido. En estos casos una cubierta de plomo frecuentemente puede servir como un escudo primario. De esta manera cualquier radiación de Bremsstrahlung que se produzca es absorbida por el plomo. La radiación Gama y los rayos "X" son capaces de penetrar a través de los medios sin interaccionar con los electrones, hasta que estos por el azar chocan con electrones, átomos u otros núcleos atómicos; esto resulta en la liberación de partículas de energía. Ejemplos de esto son el  $^{137}\text{I}$  y el  $^{60}\text{Co}$ . La radiación gama, bremsstrahlung y los rayos X carecen de masa o carga y por lo tanto son mucho más penetrantes que las partículas alfa ó beta. Su penetrabilidad hace a estas partículas extremadamente peligrosas cuando ellas están en contacto con estructuras internas o externas del cuerpo.

La vida media de los radionucleótidos o isótopos, es el tiempo que requieren para que un número inicial de átomos radiactivos disminuya a la mitad. Los radionúcleos con una vida larga son potencialmente mucho más peligrosos que los radionúcleos con vida corta.

La dosis de radiación se expresa en Rems. Las máximas dosis permisibles han sido establecidas por la Comisión Regulatoria de Energía Nuclear de los Estados Unidos (NRC). Los límites de dosis permisibles para la gente menor de 18 años es un 10% del límite especificado para los adultos.

La naturaleza y la cantidad de los riesgos químicos (sustancias tóxicas y carcinogénicas), así como también el modo y la duración de exposición, determinan el riesgo inherente al contacto con los químicos. Para un gran número de sustancias los proveedores proporcionan material u hojas con información técnica (OSHA forma 20), las cuales dan características de las propiedades físicas y datos sobre la toxicidad de las sustancias. Sin embargo, la calidad y la profundidad de la información en estas hojas técnicas varía mucho. Para sustancias en las cuales no existe información en estas hojas técnicas (por ejemplo, sustancias químicas para uso en investigación en pequeñas cantidades), los fabricantes usualmente proporcionan sobre pedido, información técnica de riesgos de seguridad y de salud. Los valores límites de exposición (VLE) puede utilizarse como guía para valorar la severidad de una exposición a un químico. Estas son emitidas por la Conferencia Americana de Higienistas Industriales del Gobierno. Los valores límites de

exposición no necesariamente pueden ser aplicados en su totalidad a un bioterio, dado que éstos no consideran la exposición y efecto sinérgico de varios agentes químicos. La experiencia y la sensibilidad debe ser evaluada individualmente. Mujeres embarazadas y sus productos pueden ser susceptibles a daños con sustancias químicas a niveles más bajos que los que se consideran normalmente para un adulto.

En la valoración de los riesgos, la habilidad y la experiencia de los técnicos involucrados debe ser considerada. Los técnicos deben comprender adecuadamente el riesgo de su trabajo y deben por lo tanto ser competentes en los procedimientos para reducir daños personales. Ellos también deben estar prevenidos de que puedan estar expuestos a otros peligros. Los técnicos no deben traer niños, amigos, o parientes al bioterio, sin primero obtener la aprobación de la gente a cargo del bioterio.

La valoración de riesgos requiere un sano juicio y la aplicación de los principios generales a todos los protocolos de investigación. Una apropiada evaluación requiere el conocimiento del tipo de bioterio, de las prácticas que se realizan en él, de los dispositivos de protección de personal y del equipo que puede ser necesario para desarrollar adecuadamente el trabajo.

#### **MEDIDAS DE SEGURIDAD**

Los técnicos que trabajan en un bioterio pueden estar expuestos a agentes riesgosos, o peligrosos, tanto a través de las actividades que realizan en el bioterio diariamente, o a través de los experimentos con los animales. Para proteger a estos empleados, el bioterio debe adoptar medidas de seguridad que sean consistentes y acordes a las prácticas recomendadas.

Buenos ejemplos de agentes generales de infección en los aerosoles y su relación y consecuencia con la salud ocupacional, han sido recientemente descritos, como es el caso de algunos pediatras que utilizando rayos láser para quemar verrugas de los pies de sus pacientes han desarrollado verrugas en su cara. La dispersión de partículas en el aire (aerosoles), puede también resultar del uso de mezcladores, sonificadores, lavado de cajas, ruptura celular, centrifugas, licuadoras, jeringas, pipetas, aspiradores y tubos de ensayo. Todos estos instrumentos son de uso común en los bioterios. La contaminación del aire del cuarto, con partículas líquidas o sólidas suspendidas que contienen material peligroso debe ser evitado. Estos materiales pueden ser agentes infecciosos como virus y micoplasmas, de o provenientes de cultivos celulares normales, radioisotopos, sustancias químicas tóxicas y carcinógenos.

La contaminación por aerosoles y procesos generantes de aerosoles, es de primordial importancia para el individuo que trabaja en un bioterio. Para disminuir los riesgos de los aerosoles producidos por procedimientos o técnicas habituales, como el desechar el exceso de líquido de una jeringa, que ha sido introducida en un frasco con vacunas o en un animal en proceso

experimental, la punta de la aguja debe ser cubierta con un algodón estéril cuando se va a realizar este proceso.

La severidad del riesgo de un aerosol depende de:

1. La concentración del material riesgoso en la suspensión.
2. La cantidad de la energía proporcionada por el equipo que causa el aerosol.
3. El grado de protección que proporciona el medio en que está suspendido el material.
4. El grado de peligro asociado al material.
5. La susceptibilidad de un individuo al agente.

El tamaño de la partícula del aerosol es un factor determinante en el patrón que el aerosol seguirá. Partículas en el rango de uno a cinco micrones presentan el mayor riesgo, dado que las partículas grandes son fácilmente retenidas en el tracto respiratorio, por el contrario las partículas pequeñas pueden alcanzar estructuras del aparato respiratorio más profundas. Muchos procedimientos que se realizan en el laboratorio, normalmente producen aerosoles con partículas en este rango. Las partículas grandes no penetran en las porciones más distales del tracto respiratorio, ellas son removidas y capturadas en las vías respiratorias altas y después expelidas o tragadas. Las gotas grandes que se precipitan sobre la superficie se secan rápidamente, pero se pueden producir aerosoles secundarios a través de la creación de corrientes o actividades en el laboratorio sobre estas partículas secas. La sedimentación de las partículas grandes de un aerosol ocurre en aproximadamente cinco minutos. Sin embargo, la mayoría de las partículas remanentes requieren de 30 a 60 minutos para sedimentar, asumiendo que corrientes de aire fresco no eviten su sedimentación. Esta es la razón por la cual es mejor esperar un poco antes de limpiar cuando se ha salpicado o derramado un virus infeccioso. Además de los efectos directos de los aerosoles, ellos también pueden contaminar superficies de la piel o equipo y posteriormente penetrar al cuerpo como el resultado de la absorción a través de laceraciones.

Las normas para el manejo seguro de los virus oncogénicos han sido desarrolladas por el Instituto Nacional de Cáncer de los Estados Unidos. A pesar de que se reconoce que los virus oncogénicos de los animales no son capaces de producir cáncer en los humanos, deben desarrollarse criterios para identificar virus oncogénicos de bajo, moderado y alto riesgo. Las normas han sido preparadas para proteger a los trabajadores del bioterio, o de los laboratorios debido a las consecuencias de la exposición a virus oncogénicos de animales y en la consideración de que virus oncogénicos de humanos pueden no ser evidentes por muchos años o incluso no presentarse hasta que la persona susceptible es accidentalmente inoculada. Los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos han desarrollado normas para todos aquellos investigadores que trabajan con DNA recombinante y que reciben

algún apoyo de éstos institutos. Estas guías especifican la metodología para la construcción y el manejo de DNA recombinante, y organismos y virus que lo contienen. Los Institutos Nacionales de Salud, han desarrollado normas en el laboratorio para los usuarios de sustancias químicas carcinogénicas. Estas normas recomiendan procedimientos y medidas para reducir la exposición a las sustancias químicas con un posible riesgo carcinogénico. Esto se aplica al uso de muchas sustancias químicas (pero no todas), para las cuales las normas han sido promulgadas por OSHA. Se debe dar especial atención a la cantidad de sustancia química carcinogénica que puede ser utilizada, las propiedades químicas y físicas del agente, la potencia carcinogénica comparativa, el tipo de procedimiento experimental en que será involucrado su uso y el control de ingeniería disponible en el bioterio para este carcinógeno.

La cantidad de radiactividad rutinariamente utilizada en investigación biomédica para estudios bioquímicos y moleculares, que involucran el uso de animales es relativamente pequeña. Sin embargo, protección contra la radiación es esencial debido al efecto acumulado de la exposición a las radiaciones. Los pasos que un bioterio debe tomar para proteger a su personal de la radiación incluyen:

1. Haber desarrollado un plan adecuado de emergencia para responder inmediata y efectivamente ante el derrame o presencia de un accidente radiactivo.
2. Usar protecciones y escudos apropiados en el lugar, equipo y ropas de trabajo, como pueden ser guantes y delantales. Para la mayoría de los trabajos de rutina que involucran el uso de radioisotopos en el bioterio, lucita de 0.64 cm de grosor o mayor, debe ser utilizada con varios niveles de plomo, esto reducirá la exposición total del cuerpo a un rango menor de 1mR/hora en el punto de contacto.
3. Selección apropiada, instalación, mantenimiento y operación de todo el equipo. Selección de medidores adecuados de diferentes fuentes de radiación. Contadores Geiger-Muller que detecten partículas beta y pequeñas fracciones de fotones gama; detectores de radiación gama, medidores de centelleo de yoduro de sodio de baja energía, rayos X y bremsstrahlung.
4. Disminución del tiempo de exposición.
5. Aumentar la distancia entre los técnicos y las fuentes de radiación. La intensidad de la exposición decrece inversamente al cuadrado de la distancia de la fuente.
6. Proporcionar entrenamiento apropiado y supervisión a los técnicos para que cumplan las rutinas o las tareas de rutina adecuadamente con un mínimo de exposición e irregularidades.

Para la protección futura del personal y de los animales, los animales inoculados con radioisotopos deben ser mantenidos en lugares ventilados apropiadamente. Las cajas deben ser etiquetadas para radiactividad, hasta que se haya probado que han perdido esta actividad. Los cadáveres y los desechos de las cajas deben ser eliminados como si fuera material radiactivo. Los bioensayos deben realizarse para asegurar el grado de contaminación de personal técnico, con un cierto tipo de radioisotopo; por ejemplo, uranio, análisis de los trabajadores con más de 100 mCi de  $^{3H}$  a un determinado tiempo y escaneo de la tiroides si trabajaron con  $^{125I}$ . Los compuestos y los solventes que contienen radioisotopos juegan un papel crucial en la determinación de la absorción y destino dentro del organismo expuesto.

#### MANEJO DE DESECHOS

En el bioterio hay generalmente dos categorías de desechos: desechos generales, los cuales incluyen el material de cama y los cadáveres de los animales de laboratorio sanos; y desechos peligrosos, los cuales incluyen sustancias químicas tóxicas, material infeccioso, radiactivo y cadáveres. Las regulaciones locales o estatales pueden definir la categoría de un tipo de desecho en particular.

Los desechos generales pueden tener características objetables o de putrefacción. La práctica de buenas técnicas de higiene y descontaminación prudente, ofrece una protección al técnico que se involucra en el manejo de este tipo de desechos.

Los desechos peligrosos generalmente provenientes de procesos experimentales en los cuales se inocula a los animales, patógenos zoonóticos radioisotopos. Estos incluyen contaminación de los materiales de cama, contaminación del cadáver o cuerpo del animal y contaminación de fomites como pueden ser instrumentos desechables. Las técnicas de diagnóstico de laboratorio también pueden generar desechos peligrosos de el procesamiento de sangre, productos derivados de la sangre o fluidos corporales y de la producción de productos biológicos, en los cuales organismos patógenos han sido utilizados; por ejemplo, la producción de vacunas. Sustancias químicas tóxicas generalmente no se utilizan en grandes cantidades en los bioterios, así que el desecho de éstos no es de gran preocupación como en el caso de desechos radiactivos o infecciosos. Sin embargo, debe manejarse con igual grado de precaución.

La mayoría de las instituciones mantienen o emplean personal que es ampliamente capaz en el manejo de estos desechos. Estas personas proporcionan orientación sobre el desarrollo de estrategias para el manejo de los desechos en concordancia con las regulaciones institucionales, o federales.

El tecnólogo, ya sea en su papel de director o trabajando directamente con los desechos generales del bioterio, frecuentemente se ve involucrado en el manejo seguro de todos estos desechos, la separación de los desechos mezclados, el empaçado de

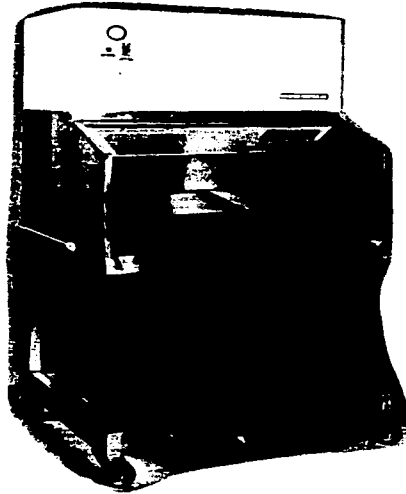
los desechos y el tratamiento de los desechos seleccionados ya sea por autoclave o incineración.

Para desechar o eliminar apropiadamente estos desechos se debe tener un sistema de barreras físicas que sellen los desechos y eviten el contacto del personal o del ambiente en general con ellos. El uso de ropa protectora, bolsas de plástico para el almacenamiento de desechos, uso de vehículos especiales, así como de tubería y bombas que drenen esto del bioterio manteniendo una barrera. La barrera puede también ser apoyada a través de la incineración y el autoclaveado de los productos riesgosos. Una vez esterilizados los desechos pueden ser eliminados en trincheras sanitarias.

Materiales o desechos no peligrosos generados de los bioterios, frecuentemente presentan un problema especial de manejo para su eliminación. El material de cama de los animales, por ejemplo, produce malos olores cuando se almacena a la temperatura ambiente por un largo tiempo; sin embargo el ejercicio de buenas prácticas de descontaminación pueden reducir este problema. Reglamentos locales o institucionales pueden aplicarse para el manejo y desecho de agua que contiene excremento. La descontaminación de los materiales de cama de animales sanos generalmente no se requiere, aunque se deben de mantener o establecer contenedores que eviten la producción de aerosoles alergénicos. Existen comercialmente sistemas disponibles que disminuyen la producción de alérgenos por el material de cama, la forma en que estos sistemas trabajan es evitando la formación de partículas por aerosoles en el aire, así como de otros contaminantes (Fig.9.3). Los materiales de cama obtenidos o provenientes de animales de laboratorio sanos, deben ser manejados como desechos sólidos y deben ser colocados como relleno sanitario.

Las agujas, las hojas de bisturi, pipetas, vidrios rotos y otros artículos penetrantes poseen un riesgo físico para el personal. Este problema puede ser evitado si se colocan todos estos artículos filosos en botes o contenedores sellados que estén claramente etiquetados y que sean a prueba de fugas o resistentes a perforaciones. Las agujas hipodérmicas y las hojas de bisturi frecuentemente son empacadas en estos botes desechables y altamente resistentes, incluso a altas temperaturas. Las jeringas y agujas desechables utilizadas, deben de colocarse intactas directamente en el bote de desechos filosos, sin que éstas tengan que ser tapadas nuevamente. El bote para desechos punzocortantes, debe localizarse en un área convenientemente próxima a actividades, donde se generen este tipo de desechos; por ejemplo, en el cuarto de los animales o en el cuarto de necropsias.





**Figura 9.3** Los sistema de contenedores de cama reducen la propagación de aerosoles dañinos, tales como: Alergenos y otros contaminantes, ventilando el área de desechos y removiendo los contaminantes antes de que la aereación se efectúe en la unidad.

La primera responsabilidad en el manejo seguro de desechos peligrosos, radica en los individuos que generan estos desechos. Estos individuos son responsables del seguimiento de los desechos hasta su punto de eliminación, incluso si existen algunas otras personas involucradas en el manejo de estos desechos; por ejemplo, los transportistas o los operarios de los basureros para el relleno sanitario. Existen legislaciones federales, estatales y locales que regulan el manejo de los desechos biológicos. El cumplimiento de estas regulaciones requiere mantener registros rigurosos. Ningún programa de manejo de desechos es funcional hasta que el personal apropiado y conciente es colocado en el manejo de estos desechos. Los desechos biológicos pueden contener agentes infectantes o sustancias peligrosas. El no tratar estos materiales puede tener diferentes grados de problemas, todos ellos productores de enfermedades. Para reducir las posibilidades de una contaminación cruzada, estos desechos deben procesarse de tal manera que disminuyan las posibilidades de exposición de los trabajadores así como de contaminación ambiental. Los desechos peligrosos deben separarse de otros tipos de desechos. Este proceso anticipa y provee la necesidad de tomar decisiones que apoyen al personal de servicio. Los desechos pueden ser tratados en el lugar donde se generan, para reducir la concentración del peligro hasta un nivel aceptable o pueden ser empacados para evitar su exposición a otras personas que los pudieran manejar hasta su tratamiento final. Es imperativo que los desechos peligrosos sean empacados y claramente identificados, para que otros puedan manejarlos fácilmente, reconocer y comprender su riesgo potencial. El símbolo universal de riesgo biológico o los símbolos de la radiación pueden utilizarse para este propósito.

Las medidas de prevención más importantes para el personal que maneja desechos peligrosos en los bioterios, son las del uso de guantes protectores y batas de laboratorio, así como lavarse las manos frecuentemente. Los guantes y la ropa de laboratorio deben ser cambiadas cuando se llenan de polvo o se dañan. Los técnicos que procesan los desechos en el autoclave deben utilizar delantales de plástico, zapatos de trabajo, los guantes deben ser resistentes al calor, deben carecer de residuos de asbesto y se pueden utilizar caretas para protección en contra de accidentes que pudieran pasar durante la carga o descarga.

Existe en el mercado una gran variedad de artículos para empacar o transportar desechos infecciosos. Las características típicas de estos contenedores es que están hechos en papel resistente a escurrimientos o cartón, acero inoxidable o de polímeros resistentes a altas temperaturas. Los desechos sólidos pueden ser empacados con seguridad en bolsas resistentes o cajas, así como charolas con tapas selladas que puedan ser utilizadas para pipetas. Los líquidos gruesos pueden ser colectados en contenedores a prueba de fugas, descontaminados y después descargadas en los sistemas de drenaje. Contenedores rígidos resistentes a prueba de picaduras y sellables, son necesarios para empacar artículos filosos como

vidrios rotos, equipo de plástico, agujas y hojas de bisturí. Los desechos húmedos deben ser empacados con una cantidad suficiente de material absorbente que prevenga o disminuya las fugas de líquidos. Para su transporte, los desechos húmedos deben ser colocados en bolsas dobles y cada bolsa debe ser sellada independientemente. Desechos pesados, como pueden ser los cadáveres, el material de cama de los animales, deben ser colocados en contenedores rígidos.

El autoclaveado es el método de descontaminación de desechos infecciosos antes de su retiro del área biocontaminada. En estas áreas las autoclaves están disponibles para descontaminar cultivos, cristalería pequeña como pipetas y jeringas. Los artículos grandes deben ser descontaminados en autoclaves mayores. Los desechos descontaminados por autoclave pueden ser manejados como desechos generales. Algunos tipos de desechos como los cadáveres son difíciles de descontaminar en un autoclave, debido a que el organismo contaminante está aislado y protegido del calor, así como de la penetración del vapor. La incineración es por lo tanto el método preferido para manejo de desechos. Los isótopos radiactivos o sustancias químicas resistentes al calor no deben ser autoclaveados, debido a que contaminan las partículas de vapor que podrían escapar a la atmósfera.

La incineración es el método de elección para grandes volúmenes de desechos infecciosos y de material de cama contaminada. Los incineradores reducen el volumen del desecho en gran medida y producen productos terminales inobjetables, cenizas. Las autoridades relacionadas con la contaminación local y estatal generalmente requieren contar con un permiso institucional para operar incineradores. Para revisar una incineración efectiva y segura, así como el material completo que se va a incinerar, requiere suficiente exposición y tiempo para que se realice una mezcla apropiada, a mayor temperatura que se alcance debe existir mayor circulación del aire. Muchos incineradores modernos tienen cámaras de combustión secundaria, las cuales son zonas que contienen quemadores adicionales que aseguran de manera suficiente la temperatura, así como las mezclas. La combustión completa de todo depende también de una correcta operación del incinerador. El sobrealimentar con material de desecho la cámara primaria de combustión puede ocasionar que se generen productos volátiles. Estos resultados usualmente se deben a una producción excesiva de humo y olores. La combustión incompleta de las cenizas que se encuentran en el fondo también pueden causar problemas. Esto puede ser causado por una revoltura insuficiente de los desechos sólidos que alimentan la cámara primaria. Es un problema común, el alimentar los incineradores cuando los desechos se ponen directamente en una pila que existía previamente. Este problema puede ser solucionado por la agitación periódica utilizando un pulsador mecánico de oxígeno o un manual de puntajes.

Los desechos radiactivos deben separarse y etiquetarse de acuerdo al isótopo y forma (líquido, sólido, canal, u otros). Si los

agentes infecciosos están también presentes se debe inactivar por desinfección, si es posible. Los desechos radiactivos secos deben ser empacados en bolsas apropiadas. Por ejemplo, agujas, hilos y escarpelos deben ser colocados en contenedores a prueba de perforaciones, plásticos, papeles y otros guantes serán colocados en bolsas de plástico para permitir la inspección de los contenedores. Los desechos líquidos deben separarse en acuosos y orgánicos, estos desechos deben ser almacenados en botellas de un galón aproximadamente y con un pH ajustado de 6.0 a 9.0. Generalmente las botellas desechadas contienen 0.01 molar de tiosulfato de sodio. Los tejidos radiactivos de animales, incluyendo la canal completa deben colocarse en tambores especialmente marcados que contienen lima. La Comisión Nuclear Regulatoria (NRC) permite la incineración de tejidos animales que contengan 18.5k Bq/g (0.5 Ci/g) o menos, tal es el caso de  $^3\text{H}$  o  $^{14}\text{C}$ . En la mayoría de los estados y regulaciones locales, existen indicaciones de que los desechos deben ser compactados, principalmente aquellos que contienen  $^3\text{H}$  y  $^{14}\text{C}$  y desechos animales que contengan otros radioisotopos deben ser incinerados o enviados al NRC para que sean manejados como desechos.

La mezcla de desechos consiste en materiales que presentan diferentes programas o propiedades, como es la radioactividad, infectología y toxicidad química. El tratamiento de las mezclas frecuentemente requiere de una valoración cuidadosa de la composición de los desechos, con el objeto de seleccionar la estrategia más adecuada. Cuando en el autoclave se mezclan desechos, se deben tomar precauciones para evitar la liberación de radionúcleos volátiles, como el radio-yodo y sustancias tóxicas como el mercurio o la carcinogénesis. Los desechos que contienen reactivos inflamables o químicos como el éter, puede que no estén relacionados con ellos. La descontaminación química hecha por mujeres, requiere asesoramiento antes de tratar a los animales, para asegurarse que el proceso de descontaminación no causará problema alguno adicional. Por ejemplo, usando clorox para descontaminar material infectado que contenía radio yoduros, puede resultar en la liberación de radio yoduros al aire.

#### **EMERGENCIAS Y PRIMEROS AUXILIOS**

Cualquier animal en el bioterio es causa de responsabilidad para el establecimiento, de un plan de emergencia específico. Este plan debe de cubrir tanto a los animales como a los humanos. Se debe describir la ruta de evacuación, ya que de esta manera se facilita el tratamiento a través de disco compacto y los procedimientos de reporte de emergencias como fallas u otras actividades. En los casos de emergencia como fuego, explosión y otros, el primer paso es asistir al individuo involucrado removiendo de él futuras fuentes de daño, en los casos de personas que no corren un riesgo inmediato no deben ser movidas de su lugar. Los técnicos trabajando en lugares adyacentes deben ser prevenidos de posibles daños o peligro a su seguridad. Para facilitar estos avisos, áreas aisladas

como cuartos de bioseguridad, deben estar equipados con alarmas o sistemas telefónicos. Una vez que todas las alarmas han sido activadas deben de proporcionarse los primeros auxilios inmediatamente. En caso de fuego, el departamento de bomberos debe ser llamado. En algunos sitios existen reglamentos locales que indican como controlar fuegos pequeños; esto es, el uso de extinguidores portátiles con los cuales la institución o la compañía ha instruido al personal para controlar estos incendios. Algunas compañías e instituciones requieren que todos los tipos de incendio se reporten inmediatamente, por lo que el personal debe estar entrenado para esto. En el caso de emergencias médicas, la ayuda médica debe ser proporcionada o solicitada inmediatamente. Los bioterios que carecen de personal médico deben proporcionar programas de entrenamiento de primeros auxilios a los técnicos. El entrenamiento sobre primeros auxilios pueden efectuarse a través de la Cruz Roja. Generalmente sobre esta solicitud la sección local de la Cruz Roja enviará un instructor para facilitar el entrenamiento diario. Los libros de texto que puedan ser utilizados al respecto, se mencionan en la sección de lecturas adicionales al final de este capítulo. Los bioterios deben diseñar un área específica para primeros auxilios. En esta área debe existir un signo visible que proporcione la siguiente información:

1. Nombre de la persona encargada de los primeros auxilios.
2. Instrucciones para llamar al médico (nombre, dirección y número telefónico).
3. Instrucciones para llamar a las ambulancias (nombre de la compañía y número telefónico).
4. Instrucciones para llamar al servicio paramédico (estación de bomberos y número telefónico).
5. Nombre y número telefónico de hospitales que deben ser notificados que los pacientes van en camino.
6. Procedimiento para el transporte de personas con heridas o enfermas.
7. Manual de primeros auxilios.
8. Cuaderno de registro de los detalles del paciente, problemas, tratamientos administrados y nombre de la persona que ofreció los primeros auxilios.

Existen en el mercado equipos comerciales de primeros auxilios que identifican sus contenidos con diferentes colores. Si el contenido se encuentra en forma de paquetes que tienen un color blanco, esto generalmente significa que el contenido ha sido removido o que ha sido utilizado y que necesita ser reemplazado o renovado. Los códigos de colores que se utilizan generalmente son los siguientes:

- . Azul- Antisépticos

- . Rojo- Medicamentos para quemaduras
- . Amarillo- Vendajes
- . Verde- Artículos especiales como soluciones para lavar los ojos o sales de amonio como inhalantes.

Para asegurarse que el material contenido en estos paquetes de primeros auxilios este siempre disponible, se debe proporcionar o mantener un calendario de revisión y aprovisionamiento.

El programa de entrenamiento de primeros auxilios, debe también incluir entrenamiento en procedimientos básicos para el sostenimiento de la vida, como son resucitación cardiopulmonar (RCP), respiración boca a boca y compresión cardiaca externa. En los Estados Unidos la Cruz Roja ofrece programas de entrenamiento que incluyen este tipo de entrenamiento.

No todas las situaciones de emergencia tienen un riesgo para los técnicos. Una falla de energía puede ocasionar pérdida de calor, ventilación y del aire acondicionado en el bioterio. Durante el verano esto puede resultar en una alta mortalidad para los animales. Las plantas de emergencia deben estar coordinadas con la compañía de luz o con una organización de seguros privada, que continuamente estén vigilando el correcto funcionamiento de este equipo, así como informar a los técnicos del surgimiento de cualquier tipo de emergencia. El plan debe incluir las acciones que deben de tomarse (si es que las hay) para evacuar o salvar animales.

## CAPITULO DIEZ

### DESINFECCION E HIGIENE

Cuando se conjuntan los problemas de como cuidar una especie que es poco común, generalmente se recomienda que se proporcione al animal el ambiente más parecido a su ambiente natural, desafortunadamente los hábitats naturales de las especies de las cuales derivan los animales de laboratorio son drenajes, campos de cultivo, almacenes de granos y otros similares. En términos generales estos sitios varían muchísimo en cuanto a su ambiente, si lo relacionamos con las características descritas en el capítulo ocho de esta sección y por lo tanto los animales también presentan una gran contaminación química, así como alojan una gran cantidad de microorganismos.

En el bioterio, con el objeto de lograr una buena investigación científica se tienen buenos cuidados, por lo que es imperativo que todas las variables y no solamente las variables ambientales estén controladas. Para lograr este tipo de control, el ambiente del bioterio debe establecerse con cajas que están libres de contaminación de otros microorganismos, así como también que los componentes de la cama, la dieta, el aire y el agua de bebida estén libres de agentes contaminantes. Así mismo otros aspectos del ambiente que también pudieran tener un efecto negativo o producir fuentes de variación indeseables, deben ser controladas o eliminadas. El tema de la investigación siempre se basa en que la única variable a ser medida en los animales será la que el investigador introduzca, mientras que si nosotros tratamos de simular un ambiente natural a las especies de laboratorio, esta buena práctica de manejo no tendrá ninguna repercusión en la producción del conocimiento, en general esto equivale a una pobre técnica experimental. La desinfección y la higiene, deben ser observadas como una herramienta para cambiar un ambiente natural a un ambiente controlado, altamente estructurado y que es necesario para producir un adecuado método científico. Este tipo de ambiente puede ser descrito en detalle y por lo tanto después reproducido, una característica de la que carecen los ambientes naturales.

Un programa efectivo de desinfección e higiene comprende: diseño de equipo e instalaciones; selección del alimento y material de cama, procesamiento y uso; Motivación y educación de los trabajadores; y un manual de procedimientos bien estructurado. El mejor bioterio, suministros y equipos, por sí solos no son suficientes para producir un ambiente de alta calidad requerido en la investigación. La integridad del proyecto de investigación también depende en gran medida de los procedimientos y de las habilidades para llevarlos.

#### **DESINFECTAR O DESCONTAMINAR**

Las necesidades de higiene de cada bioterio son individuales, el

personal que esta involucrado en el proceso debe determinar cual es el mejor nivel de desinfección, acorde a las necesidades de los programas que se van a conducir en ese bioterio. En un bioterio existen generalmente cuatro niveles bien definidos de desinfección, estos son:

1. Limpieza: Esto se refiere a la remoción completa de toda la basura visible de una superficie.

2. Descontaminación: Es el proceso por el cual, el número de bacterias y de organismos vivos sobre objetos inanimados, es reducido a niveles compatibles con los estándares de salud pública. La descontaminación no necesariamente elimina totalmente los microorganismos.

3. Desinfección: Este es el proceso por el cual el número de microorganismos patógenos (pero no necesariamente esporas) sobre objetos, es reducido a un nivel de inocuidad. La mayor parte de los desinfectantes son extremadamente fuertes como para ser utilizados sobre animales vivos.

4. Esterilización: No debe confundirse con los procesos por los cuales se hace infértil a un animal desde el punto de vista reproductivo. En el término de desinfección, esterilización se refiere al proceso por el cual un objeto es totalmente desprovisto de microorganismos vivos.

En un bioterio típico, la mayor parte de los microorganismos son controlados por un proceso de descontaminación más que por un proceso de esterilización. Un objeto que ha sido esterilizado, permanece estéril únicamente si es manejado bajo condiciones especiales, ya sea cuartos limpios, o mesas limpias con técnicas asépticas. Un bioterio típico, continuamente es recontaminado por el aire, el agua, los animales y la gente. Es impráctico utilizar calor para sanitizar superficies grandes, sin embargo los agentes químicos pueden adecuadamente reducir la contaminación en las superficies (Tabla 10.1). Una descontaminación debe incluir procedimientos para la limpieza, tanto para desinfectar como para descontaminar. Ya sea que se vaya a desinfectar o a descontaminar, esto es un juicio que debe ser determinado en cada bioterio. En algunas situaciones lo mejor es el desarrollar ambos procesos, uno consecutivamente del otro o incluso simultáneamente.

El objetivo de un programa de descontaminación es, reducir la contaminación microbiana a niveles que minimizen o imposibiliten la introducción de agentes infecciosos al bioterio. Este objetivo debe ser considerado para cada área del bioterio y por lo tanto un programa adecuado de descontaminación debe iniciarse para cada uno de estos lugares. Cuando el uso de un área cambia, el programa de desinfección o descontaminación puede cambiar acorde a esta nueva situación. El grado de riesgo de una superficie contaminada depende del tipo y del nivel de contaminación, así como de la intención para la cual es utilizada la superficie. El riesgo de causar una infección se incrementa si el organismo contaminante es resistente,



altamente virulento o ambos. El riesgo también se incrementa si los animales son particularmente susceptibles, como pudiera ser el caso por ejemplo de animales que están inmunosuprimidos.

Una vez que se ha decidido ya sea la desinfección o la descontaminación, el proceso de selección del agente químico idóneo empieza. Antes de realizar una selección final, sin embargo, existen un número de aspectos que deben ser considerados.

**Leyenda de la etiqueta:** Todos los desinfectantes que pueden ser utilizados para superficies duras, están regulados por la Agencia para la Protección del Medio Ambiente en los Estados Unidos (EPA), debido a la existencia de la ley federal para insecticidas, fungicidas y rodenticidas.

La EPA requiere que las etiquetas de los desinfectantes indiquen con certeza y honestidad, para que agente es recomendado y también para cual es efectivo el producto. Establece que la etiqueta indicará, los procedimientos por los cuales se asegura lo anterior, en concordancia con lo que en los Estados Unidos se conoce como la Asociación Oficial de Analistas Químicos (AOAC).

**Espectro de Actividad:** En la etiqueta se debe indicar contra que organismos ha sido probado el producto. Es mejor seleccionar un producto que ha sido probado contra un número grande de microorganismos tanto Gram(+) como Gram(-), Mycobacterium tuberculosis, varios hongos y virus. Cuando se considera a un producto nuevo, tanto la formulación química, como la formulación del producto, es decir, su concentración debe de ser revisada. En algunas de las pruebas realizadas por AOAC, se utiliza un 5% de suero para simular suciedad ligera presente; no para simular suciedad gruesa. En el proceso de descontaminar las cajas de los animales por ejemplo, el primer paso es el lavado de las cajas removiendo toda la suciedad gruesa, así como la suciedad de las camas y depósitos de orina. Únicamente después de que se ha realizado esta limpieza, puede considerarse hacer estudios para determinar la efectividad del agente en presencia de una suciedad ligera.

**Efectividad en Aguas Duras:** La dureza del agua utilizada para realizar la dilución es importante, debido a que las aguas duras tienen iones que pueden activar el agente químico. Algunos productos tienen etiquetas que indican una dilución para utilizarse con aguas duras y otro tipo de dilución para utilizarse con aguas blandas. En caso de que se haga alarde de que el agente es eficaz en aguas duras, debe especificar contra que organismo ha sido probado.

**Estabilidad en el Ph:** El Ph tanto de la solución concentrada como de la solución diluida debe ser estable. La actividad de los agentes químicos esta influenciada en gran medida por el Ph del producto en la dilución. La fórmula de fabricación del producto debe de incluir soluciones tampon que eviten cambios significativos de Ph, tanto de la fórmula concentrada como de la solución. También deben existir soluciones tampon presentes para reducir los cambios

producidos por agentes desodorantes o jabones con los que puede ser diluido el producto.

**Dilución:** La concentración a la cual el producto debe ser utilizado, ha sido determinada a través de probar productos sobre una gama de condiciones y contra un espectro de microorganismos. Lo recomendable es seguir la dilución recomendada por el productor, dado que el utilizar demasiado producto es un desperdicio y puede dañar incluso algunos artículos o tejidos, también el utilizar poco producto puede reducir o eliminar su efecto antimicrobiano.

**Tiempo de Contacto:** La contaminación muy raramente es causada por una sola bacteria; por el contrario es causada por una población de bacterias. En cualquier población algunos son más susceptibles a un agente que a otros. La diferencia de susceptibilidad entre individuos en una población, usualmente se incrementa cuando la población esta compuesta por una gran variedad de especies bacterianas y esporas. La consecuencia práctica de esta gama bacteriana, es que las bacterias que contaminan una superficie mueren como población con el paso del tiempo. Es entonces esencial que el agente esté en contacto con la superficie por un tiempo prolongado suficiente para matar a todos los organismos resistentes que se encuentren. Por lo tanto si el productor especifica el tiempo de contacto que debe ser utilizado, el proceso debe ser entonces realizado de esa forma y la superficie debe mantenerse húmeda durante todo este período.

**Temperatura:** Uno puede pensar que el incrementar la temperatura con respecto de la dilución que se utiliza, incrementa su eficacia. Sin embargo, la aplicación de calor adicional puede provocar evaporación de los componentes de la fórmula y entonces esto reduce o elimina la efectividad del compuesto. Nunca se deben exceder las recomendaciones del productor o fabricante.

**Características de la Superficie que va ser Tratada:** Cuando se esta seleccionando el agente químico, la naturaleza del material donde va ser tratado tiene que considerarse en dos aspectos. Primero si está pintado, oxidado o corroído; segundo si es una superficie porosa o impermeable y si este material contiene nudos, ranuraciones, rayaduras u otra alteración que pueda dificultar el que el agente limpiador alcance el interior de esta estructura.

**Otros atributos:** Algunos agentes tienen cualidades detergentes y otros son estrictamente agentes esterilizantes. En este último caso cualquier superficie que sea el objeto a tratar, debe ser prelavado o agregar un agente limpiador al producto esterilizante.

**Incompatibilidades:** La mayor parte de los productos descontaminantes, contienen al menos tres tipos de sustancias que desempeñan papeles con eficacia antimicrobiana; la sustancia antimicrobiana en sí, el agente detergente y el Ph que controla la sustancia. Así mismo, el producto puede contener enzimas que destruyen proteínas, grasas y aceites, agentes defloculantes que

mantienen la basura en suspensión, agentes secuestrantes que remueven depósitos de orina, agentes quelantes que suavizan las aguas duras y desodorantes. Es esencial que estas sustancias sean compatibles. De aquí que algunas incompatibilidades típicas puedan encontrarse;

.Detergentes no iónicos inactivan fenoles.

.Jabones y detergentes aniónicos inactivan compuestos del tipo de los cuaternarios de amonio.

.Sustancias reductoras, rápidamente consumen a los productos alogenados.

.Compuestos fenólicos aniónicos combinados con cuaternarios de amonio son insolubles y son mezclas inactivas.

.Sustancias que controlan el Ph pueden corroer algunos materiales.

**Toxicidad:** Los agentes descontaminantes o de limpieza deben removerse siempre. De otra manera los residuos que queden, pueden posteriormente reaccionar con otros compuestos que sean incompatibles o tener un efecto tóxico sobre el animal con el cual puedan estar en contacto. A pesar de que algunas de las diluciones comercialmente disponibles son razonablemente seguras, su concentración debe ser manejada con gran cuidado. Recuerde que si el producto es completamente seguro es muy probable que no mate ningún microbio.

**Métodos de Aplicación:** La cantidad a ser utilizada o la solución a prepararse, puede ser realizada a través de métodos manuales o preferentemente, a través de un equipo que dosifique automáticamente el agente químico. Hay varios métodos para aplicar la solución. El método seleccionado debe considerar la cantidad tolerable de exposición al trabajador, la acción de limpieza mecánica, el tiempo químico de contacto y la productividad del esfuerzo.

. **Trapeador:** Esto permite una buena aplicación con buen control mecánico para la remoción de los contaminantes. Sin embargo frecuentemente son utilizados inapropiadamente por el técnico, quién deja cantidades inadecuadas sobre la superficie, así como también tiempo inadecuado de exposición. Así mismo los métodos manuales usualmente requieren más trabajo que los métodos mecanizados.

. **Aerosoles:** Este es el método adecuado que permite una buena humectación y penetración de las áreas. Este es un método más eficiente que los métodos manuales, pero es mucho mejor si se emplean en cuartos bien ventilados con drenajes. Los aerosoles generalmente requieren de el uso de equipo de protección adecuada.

. Inmersión: Esta técnica proporciona un tiempo de contacto óptimo pero no ofrece ninguna limpieza mecánica.

. Nieblas: Este proceso dispersa líquidos en una gran cantidad en pequeñas gotas que ocupan los espacios y llenan las superficies. Este es el método más peligroso para la aplicación de líquidos.

. Fumigación: Esta consiste en la evaporización de un agente volátil y su recondensación de una fase de vapor sobre la superficie. Agentes que son activos tanto en estados líquidos como gaseosos, pueden ser aplicados utilizando una mezcla de nieblas y fumigación (por ejemplo, ácido peracético usado en las técnicas gnotobióticas o paraformaldehído para descontaminar un cuarto completo). Los riesgos a la salud relacionados con el tipo de agentes volátiles puede ser reducido en gran medida por este método.

. Métodos de Evaluación: Mientras que la inspección visual por un trabajador y un supervisor pueden determinar si la limpieza ha sido satisfactoria, esto no es suficiente para la desinfección y la descontaminación. Por lo que un programa de monitoreo de las superficies tratadas debe de realizarse. Los detalles de las diferentes técnicas del monitoreo fueron discutidos en el capítulo ocho de esta sección.

#### HIGIENE DEL PERSONAL

Un gran volumen de información sobre la higiene del personal fué presentado en la sección I de este manual. La información que se resume aquí es principalmente para el beneficio de los técnicos y los tecnólogos que supervisan a otros trabajadores. Es parte de la responsabilidad del supervisor el ser un modelo de rectitud y de disciplina, cuando ambientes sucios han sido dejados por otros trabajadores. Para evitar la diseminación de enfermedades tanto hacia los animales como a los empleados de un bioterio, el supervisor debe monitorear muy de cerca las conductas de los trabajadores. Por ejemplo, los trabajadores deben estar conscientes de lavarse sus manos antes y después de manejar a los animales o el equipo con el cual los animales han estado en contacto. Los empleados deben cubrir su boca y su nariz cuando estornudan o cuando tosen y deben evitar el escupir. Nadie debe de comer, beber, o fumar en áreas no diseñadas para esta actividad. Los empleados deben evitar el abuso de cualquier sustancia. Se debe recomendar a los empleados el mantener sus manos y sus dedos lejos de su cara. Así mismo deben de mantener siempre una apariencia profesional y deben evitar el contacto de sus membranas mucosas con los animales. De hecho ellos deben evitar cualquier contacto boca con boca, ya sea para un mecanismo de resucitación o simplemente por hacer un cariño al animal. Existen algunos bioterios que incluyen frases en el contrato de los empleados como "Los empleados deben de practicar actos higiénicos todos los días". Así mismo

frecuentemente se enlistan el número de las actividades higiénicas que deben realizar.

Cuando se utilizan animales en investigaciones científicas, es imperativo que todos los empleados recuerden que su deber es hacer o facilitar el éxito del estudio, sin introducir enfermedades que pueden negar el éxito del estudio, así como desperdiciar la utilización del animal. Por lo tanto, el programa de descontaminación de un buen bioterio requiere un monitoreo continuo de los procedimientos y del personal que trabaja en él. Los procedimientos deben ser diseñados para lograr las necesidades específicas de un área en particular. El material utilizado en el programa de descontaminación, debe ser seleccionado para lograr objetivamente las metas propuestas y el personal debe ser educado para lograr las metas del programa de investigación. La atención de la mayoría de estos requisitos caen bajo la actividad del personal de supervisión, quién de preferencia ha logrado el nivel de tecnólogo certificado.

**Tabla 10.1. Agentes antimicrobianos recomendados para usarse en los programas de desinfección en un bioterio.**

Agente Antimicrobiano	Aplicación	Ventajas	Desventajas
Hipoclorito de Sodio	Desinfectante acuoso	Relativamente mata rápido	Efectividad dependiente del Ph
	Industria Alimenticia y lechera	Puede usarse en superficies para preparar alimento	Es inactivado por material orgánico, luz ultravioleta y calor
		No se altera con aguas duras	Olor desagradable
			No tiene efecto esporicida
			Limpieza pobre
			Corroe metales
			Puede blanquear superficies
Dióxido de cloro	Superficies duras y esterilizante	Tuberculicida	Corroe algunos metales
		Viricida y esporicida	Vida corta después de su activación
		Mata rápido Mycobacterium tuberculosis	Se inactiva con materia orgánica
		Puede ser usado en mat. termolábil	
Iodophoros	Superficies duras es sanitizante y desinfectante	No se altera con aguas duras	Puede manchar
		Puede usarse en superficies para preparar alimento.	Puede irritar membranas mucosas
		Buena actividad limpiadora.	Se inactiva por exposición a LU.V., calor, materia orgánica.

Tabla 10.1 Agentes antimicrobianos recomendados para usarse en los programas de desinfección en los bioterios (cont.).			
Agente antimicrobiano	Usos	Ventajas	Desventajas
Compuestos Fenolicos	Superficies duras sanitizantes	Tuberculicida Amplio espectro  Puede ser bacteriostático  Buena actividad limpiadora  Elección para áreas de alto riesgo	Efectividad reducida por la presencia de cationes.  En algunos lugares hay restricciones para su desecho  No es esporicida
Cuaternarios de amino compuestos clorados	Superficies duras, desinfectante y sanitizante	Espectro amplio  Puede ser bacteriostático  Buen deodorizante  Puede ser usado en superficies para preparar alimentos  excelente acción limpiadora	Puede no ser efectivos contra pseudomonas  Generalmente no son tuberculicidas  No son esporicidas  Su efectividad es reducida por la presencia de jabones
Alcoholes- ethyl, buthyl, amyl	methyl, prophyl, Superficies duras, desinfectante y sanitizante aéreo	Tuberculicida  Espectro amplio  Puede tener actividad residual si se le mezcla con cuaternarios o fenoles	No tienen acción detergente  Son volátiles e inflamables  No tienen actividad esporicida
Glutraldehído	Superficies duras, esterilización y desinfección	No mancha No corrosivo  Esporicida, tuberculicida, y viricida  Util en la esterilización de plásticos, hules, lentes y otros artículos que no puedan ser autoclaveados	No es estable cuando se le usa en soluciones diluidas  Corrosivo en formulaciones con Ph bajo  Puede irritar piel y membranas mucosas  Es inactivado por presencia de material orgánico  Es un sensibilizador potencial tiene olor fuerte

## UNIDAD 5

### SALUD ANIMAL

El material en esta unidad presenta los principios de salud y enfermedad animal, a un nivel de profundidad mucho más grande que el ofrecido en la sección I de este manual de entrenamiento.

Esta unidad también presenta a nivel de tecnólogo, las enfermedades más comunes de los animales de laboratorio y como éstas pueden ser diagnosticadas y tratadas.

La parasitología está enfatizada en esta unidad, debido a que está directamente relacionada día a día con el trabajo del tecnólogo. En toda la unidad se hace especial énfasis en la prevención de enfermedades.

El tecnólogo es un vínculo de unión extremadamente importante en la procuración y el mantenimiento de la salud de los animales de laboratorio. Es usualmente el tecnólogo quien entrena y supervisa el trabajo que realizan día con día otros en el bioterio. Que tan bien esta hecho, es el primer factor que determina la salud o enfermedad de los animales de laboratorio.

## CAPITULO ONCE

### PRINCIPIOS DE SALUD

Muchas enfermedades de los animales de laboratorio son altamente contagiosas y pueden diseminarse rápidamente a través de la colonia. No únicamente esto puede ser desastroso para los animales, sino que también puede ser un impedimento serio para el progreso de los programas de investigación en esa institución. Lo mejor es evitar este tipo de desastres y establecer programas de prevención. Estos programas se inician con la adquisición de animales sanos.

El primer requisito para obtener y mantener animales sanos exitosamente, es el proveerse de animales producidos bajo buenas condiciones de manejo, así como con programas de monitoreo de su salud. Cuando los problemas o las amenazas de salud ocurren en la colonia, el personal del bioterio y en particular de la colonia, debe de actuar rápidamente. Ellos deben primero determinar y después implementar rápidamente las medidas de solución más efectivas para un animal o para la colonia completa. Si es necesario elegir entre lo que es ideal y lo que es posible en una situación en particular, la salud de la colonia debe ser considerada como prioritaria sobre la salud de un individuo. Para tomar esta decisión se requiere una cooperación muy estrecha y comunicación entre los proveedores de animales, los investigadores, el personal veterinario, técnico y la administración.

#### OBTENCION DE ANIMALES SANOS

El comprar animales sanos, es solo el hecho de ordenar estos animales a un productor reconocido cuya colonia se sabe que es sana y se mantiene en buenas condiciones. Por ejemplo, como se envían



los animales al bioterio, esto es importante debido a que puede ocurrir una exposición a contagio de los animales durante el trayecto de transportación. Así mismo, el como se manejan los animales cuando llegan al bioterio, es también importante porque no importa que tan saludables se vean a su llegada, si incluso el mejor método de manejo los pudo estresar. Un buen programa de recepción de animales es tan importante como el comprar animales sanos.

#### **Compra de Animales**

Todos los animales utilizados en investigación deben obtenerse por medios legales. En los Estados Unidos la Ley para el Bienestar Animal especifica los requisitos para proveedores e instituciones de investigación. También se especifican los tipos de registros que deben mantenerse para todos los animales que son enviados y que son recibidos en concordancia con la ley (los ratones y las ratas de laboratorio no están protegidos por esta ley en este momento). Existen además lineamientos específicos para perros y gatos. En los Estados Unidos la forma 18-6 de la USDA indica los requerimientos que deben acompañar a todos los perros y gatos que son vendidos a los laboratorios (Fig.11.1). Otras formas que muestren los requisitos de información solicitados también son aceptadas.

Los animales para investigación deben de llenar o satisfacer las necesidades del investigador. Algunas de las especificaciones que deben de incluir la nota de venta de los animales son edad, sexo, peso y certificado de salud. Los investigadores pueden solicitar animales de diferente calidad para diferentes tipos de experimentos. Idealmente todos los animales que se compran, deben de satisfacer los requerimientos de salud necesarios para las investigaciones más específicas. Desafortunadamente, siempre existen consideraciones económicas que afectan este ideal. Si animales de diferente calidad deben de comprarse, entonces los diferentes tipos deben de ser mantenidos separados para cada uno de sus estados. Si no son animales de alta calidad, como los libres de patógenos, éstos rápidamente perderán ese estado. El peligro de la transmisión de enfermedades infecciosas determina que todos los animales comprados deben de tener una calidad suficiente para disminuir la diseminación de enfermedades en el bioterio. El precio de compra de un animal es usualmente solo una fracción del costo total del proyecto. A largo plazo es menor el costo por la compra de animales de alta calidad y obtener excelentes resultados experimentales, que comprar animales más baratos y por lo tanto tener que repetir el experimento debido a resultados dudosos.

La centralización de las órdenes de compra de animales, es esencial para mantener la buena salud de la colonia. Cuando se acopla un programa de salud de la colonia con una compra centralizada de animales, el personal que ordena los animales conoce con certeza de donde provienen y si el proveedor proporciona únicamente animales de alta calidad. Generalmente es prudente para el bioterio, el limitar el número de vendedores. Esto no únicamente reduce el riesgo de que los animales se expongan a enfermedades de

diferentes proveedores, sino también asegura uniformidad de los animales que son utilizados por el investigador. Así mismo el bioterio puede tomar ventaja de descuentos por cantidad y costos reducidos en envíos, al ordenar varios lotes de animales de un mismo vendedor, en lugar de ordenar pocos animales de muchos vendedores. El centralizar también los períodos puede coordinar al personal y asegurar que habrá suficiente espacio para cuando los animales lleguen, así como también suficiente personal para cuidar de ellos.

#### **Envío de Animales**

En los Estados Unidos, la Ley para el Bienestar Animal autoriza al departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) para que establezca y desarrolle los estándares para el envío de animales. Estos estándares, establecen los requerimientos mínimos que deben de llenar los animales que van a ser transportados legalmente. Estándares específicos han sido establecidos para gatos, perros, cobayos, hámsters, conejos, primates no humanos y mamíferos marinos. Así mismo estándares generales han sido establecidos para otros animales de sangre caliente. Cada grupo de estándares cubre instrucciones para los transportistas y manejadores intermedios, las cajas o confinamiento primario usadas en el transporte, vehículos en los que son transportados (automotores, ferrocarril, avión, barco), alimento y agua que requieren durante su tránsito, características de los alojamientos en tránsito y su manejo.

Debido a que los detalles específicos de cada uno de estos grupos de estándares son demasiado largos para mencionarlos en este texto, el personal que recibe o envía animales debe de estar familiarizado con estos estándares. Así como también, del mínimo aceptable de estándares que establece la ley para el Bienestar Animal y otras regulaciones que han sido publicadas por diferentes organizaciones. Una de las regulaciones más comúnmente utilizadas es la de la Asociación Internacional de Transportistas (IATA), la cual establece regulaciones para el transporte de animales vivos. Los envíos de animales usualmente son hechos por aire, firmas transportistas de camiones, o los vehículos propios del vendedor, en algunas ocasiones existe una combinación de éstos.

Para garantizar que no habrá retrasos innecesarios de los animales en tránsito, todos los costos de envío deben ser pagados por el que envía. Los envíos COD de animales vivos no se permiten. En el caso de que los animales enviados sean rechazados o no aceptados por el destinatario, el costo del regreso también debe estar garantizado por el que envía los animales.

El envío de los animales ya sea cruzando la calle, o a través de todo el país produce un estrés en ellos. Cambios en la temperatura, en los niveles de ruido, en la alimentación y en sus ritmos de ingestión de agua, así como también la sensación de movimiento afecta a los animales. Para reducir el estrés se debe realizar una cuidadosa selección del modo de transporte, del tipo de contenedor

y de los animales. Únicamente animales completamente sanos deben ser enviados. Animales cuya salud es al menos cuestionable no deben ser enviados, dado que el estrés de la transportación puede empeorar su condición. La Ley para el Bienestar Animal en la mayor parte de los estados, requiere de certificados de salud, los cuales deben ser firmados por médicos veterinarios acreditados, éstos deben de acompañar a todos los envíos de perros, gatos y primates no humanos. El certificado debe especificar el origen y el destino de los animales, la cantidad, la especie, sus requerimientos nutricionales y una valoración de su estado de salud, hecho por el veterinario por no más de diez días previos al envío.

El tipo de material utilizado para los contenedores de envío, frecuentemente determina el tipo y el modo de transporte que debe ser utilizado y obviamente el tipo de animal a ser enviado. Cajas de cartón bien diseñadas, reforzadas con mallas que eviten el escape, cubiertas para resistencia al agua y la orina son el tipo de cajas más frecuentemente utilizadas para el envío de roedores. Los contenedores de metal no ofrecen mucho aislamiento pero son suficientemente fuertes para animales grandes y algunas veces son utilizadas para los envíos por aire. Las cajas de plástico o de fibra de vidrio frecuentemente ofrecen tanto resistencia como buen aislamiento térmico. No se recomienda ningún tipo de caja o jaula de alambre, debido a que éstas proveen al animal de muy poca protección ambiental. Los contenedores de madera algunas veces son utilizados, debido a que no se aplastan o rompen fácilmente como el plástico, el cartón o los de lámina. Así mismo estas proporcionan un buen aislamiento térmico y ofrecen privacidad. Sin embargo, son difíciles de desinfectar a menos que la madera este apropiadamente sellada. El sellado de la madera no es práctico debido a que los animales la muerden y por lo tanto pudieran ingerir las sustancias químicas del sellador, esto puede producir daño al animal y comprometer los resultados de la investigación. Por lo tanto los contenedores de madera sólo deben utilizarse una vez que han sido descartados los otros tipos de contenedores.

Dependiendo de la distancia a la cual van a ser enviados los animales, es aconsejable que los animales se mantengan en ayuno unas pocas horas antes del envío. Los perros y los gatos frecuentemente vomitan si tienen el estómago lleno cuando son transportados. Es necesario considerar la necesidad de asegurarse que los animales no se deshidraten o sufran de falta de alimento en los envíos largos. La Ley para el Bienestar Animal especifica que se deben de asegurar los requerimientos de agua y alimento para las especies en tránsito, así como al llegar al lugar de recepción en el bioterio. Los roedores deben de tener una fuente de agua (por ejemplo, debe de mantenerse una dieta húmeda o bolsas de agua desechables con un bebedero con válvula) disponible todo el tiempo. Los contenedores de envío deben tener algún tipo de material de cama que absorba los desechos. Para los animales pequeños, la cama también proporciona aislamiento en contra de los cambios de temperatura y protege a los animales contra golpes que pudieran

ocurrir durante el transporte.

Todos los contenedores de envío deben estar claramente etiquetados. Cada contenedor debe estar marcado individualmente, en caso de que uno se separe o se pierda durante el transporte, el mínimo de información que debe contener es el siguiente:

- . Nombre, dirección y teléfono del remitente.
- . Nombre, dirección y teléfono del destinatario.
- . Las palabras **ANIMALES VIVOS**, deben aparecer en la superficie de la caja en letras grandes y gruesas.
- . Las instrucciones para la alimentación y suministro de bebida junto con alguna información apropiada sobre el tipo de comida, o en su caso las instrucciones, no se le de alimento ni comida a estos animales.
- . Instrucciones sobre el cuidado de los animales en caso de que hubiera un retraso en la ruta.
- . Instrucciones para notificar al destinatario sobre el arribo y las instrucciones de como se le notifico a él.
- . Un aviso de no abrir el contenedor.

Los requerimientos para envío de animales son tan importantes como los de recepción de los animales, por lo tanto estas instrucciones deben ser enviadas junto con ellos. Si los animales no son apropiadamente empacados y no tienen el manejo adecuado durante el envío, estos animales requerirán un tiempo adicional de estabilización y aclimatización antes de ser utilizados, o incluso pueden ser destruidos o llegar seriamente lastimados a su lugar de destino.

#### **Recepción de los Animales en el Bioterio**

Los envíos de los animales, deben aceptarse únicamente en una área especial que se encuentre separada de los cuartos donde habitan normalmente los animales del bioterio. Esta área debe ser limpiada y desinfectada entre cada envío.

Los animales recién llegados deben inmediatamente ser identificados y registrados a su llegada. El manual de procedimientos debe de establecer el status de la especie para asegurar una adecuada recepción.

Los roedores pueden identificarse por grupos a partir de la información que aparecerá en la tarjeta de cada caja. Las especies mayores deben identificarse individualmente y deben de tener cada una un registro de salud. Los registros deben detallar el proveedor, la fecha de arribo, la apariencia o estado de salud a su llegada y para los perros y gatos deben incluir descripciones individuales del animal, así como su número de identificación. Animales enfermos o dañados deben ser separados y tratados, ó en su caso sacrificados por método eutanásico, dependiendo de su condición y el valor que tengan para el investigador. Después de

tratar los animales deben ser transferidos a un cuarto de cuarentena ( si es posible) y suministrarles alimento y agua. Los animales deben ser manejados lo menos posible por al menos 48hrs., para permitirles su aclimatización a su nuevo ambiente.

Animales recién llegados debe de permitirseles un período de acondicionamiento de tres días antes de ser utilizados como sujetos de experimentación, este período puede ser de tres días a tres meses dependiendo de la especie y de las rutinas del bioterio. Esto proporciona a los animales tiempo para adaptarse a su nueva alimentación, así como a los programas de mantenimiento y a sus alrededores.

#### **CONSERVACION DE LA SALUD ANIMAL**

El requisito más importante para mantener animales saludables en el bioterio, es conservar altos niveles de calidad en el cuidado. Esto incluye todos los procedimientos para proporcionar a los animales limpieza, ambiente sano y una apropiada nutrición. Para asegurar la efectividad de estas prácticas y poder realizar mejoras cuando se necesiten, cada bioterio debe contar con un programa de aseguramiento de la calidad. Así mismo, es básico también para mantener la salud de los animales, el contar con registros de salud, cuartos de aislamiento y tratamiento, así como un apropiado método de eliminación de cadáveres.

#### **Programas de Aseguramiento de la Calidad**

La complejidad del aseguramiento de la calidad de los animales, debe basarse en el tipo de investigación que se intenta realizar con los animales. Debido a que la lista de cosas que pueden ser probadas o monitoreadas es casi infinita, únicamente aquello que puede afectar la utilización del animal o variación de las rutinas debe ser registrado. La mayoría de los programas de aseguramiento de la calidad, incluyen al menos un programa de monitoreo ambiental y un programa de monitoreo de salud. En los bioterios en los cuales se requiere el uso de animales genéticamente determinados, es por lo tanto necesario establecer también un programa de monitoreo genético. Los puntos para examinar, así como las influencias que pueden afectar la investigación tendrán que ser determinadas para cada tipo de investigación en particular.

El monitoreo ambiental debe incluir la revisión de la temperatura y humedad, ventilación e iluminación de cada cuarto, la revisión de la calidad del alimento, el agua y la revisión de las medidas adecuadas de descontaminación de todos los materiales, con los cuales el animal pudiera estar en contacto. Se debe contar con hojas de registro de la temperatura y la humedad en cada cuarto. Los técnicos o los cuidadores de los animales, deben describir en libros en cada uno de los cuartos, los eventos que ocurren durante su permanencia o realización de sus tareas en ellos. En estos mismos libros, se registrará cualquier anomalía en la salud de los animales que pudiera ocurrir durante la presencia del trabajador en el cuarto.

Para determinar la calidad del alimento y agua, se deben enviar muestras a laboratorios especiales para su análisis. El alimento debe ser inspeccionado para la detección de contaminación gruesa, dureza, humedad, insectos, olores poco usuales, y apelmazamiento. El agua debe ser revisada para asegurar que esta limpia y carece de clor, si se sospecha de algún problema, otras pruebas deben ser realizadas para el agua. Si a los roedores se les va a suministrar agua acidificada o hiperclorinada se debe comprobar frecuentemente el Ph, así como su contenido de cloro. Los problemas de monitoreo o muestreo de la salud de los animales determinan el status en el cual se encuentran, pero no previenen la presencia de enfermedades. Estos programas deben diseñarse individualmente para cada bioterio. Los parámetros de revisión, la frecuencia con la que deben ser revisados y el grado en el cual los animales deben ser examinados, debe estar determinado por los parámetros que son importantes para las investigaciones que se realicen en el bioterio. Esto es, por que en un bioterio puede ocurrir que se requieran diferentes programas de muestreo de la salud para una misma especie, dependiendo del tipo de investigación en que es utilizado.

La mayoría de los programas de salud incluyen al menos, el examen visual de todos los animales a su llegada, la inspección visual de todos los animales en el bioterio y el desarrollo de varias pruebas después de que los animales han sido introducidos en un período específico dentro del bioterio.

Con base en los reportes del proveedor, se deben periódicamente realizar pruebas para la detección de enfermedades clínicas o subclínicas, ya sea bacterianas, parasitarias o virales. Esto puede involucrar el desarrollo de cultivos bacterianos a partir de muestras aleatorias de animales, de la necropsia de algunos animales, de la colección de suero para análisis de anticuerpos contra agentes infecciosos y del examen microscópico de tejidos de estos animales. Dependiendo del tamaño de la colonia debe muestrearse un porcentaje de animales bajo sospecha de alguna enfermedad en particular, es necesario muestrear varios animales para poder lograr una evaluación significativa estadísticamente. (Vea la unidad 6 para determinar la metodología aplicable a un análisis estadístico).

Algunos tipos de investigación son tan sensibles, que la menor diferencia en variación genética de los animales, puede crear variaciones inaceptables de los resultados experimentales. Variaciones genéticas menores, pueden causar grandes diferencias en la susceptibilidad de enfermedades, respuesta a las drogas, así como la incidencia de tumores. Características fenotípicas como el color del pelaje, el tamaño físico, el número de crías por camada y la conducta, pueden ser detectadas y comparadas con los estándares de la cepa. Si animales de un color poco usual o tamaño (por ejemplo, grande o pequeño) aparecen en grupos que se supone tienen las mismas características genéticas, esto debe de ser considerado seriamente por el encargado del monitoreo genético.

No existe un programa de aseguramiento de la calidad ideal para todos los bioterios. Los programas deben de satisfacer las necesidades y metas de cada bioterio, así como las metas de los investigadores que trabajan en él. Para que un programa de aseguramiento de la calidad sea exitoso, cada bioterio debe diseñar su propio programa basándose en la información que le proporcionan los investigadores, el personal que realiza el cuidado de los animales y el personal veterinario.

#### **Registros de Salud e Historias Clínicas**

Es importante registrar apropiadamente la información que se ha obtenido durante los programas de monitoreo, o de lo contrario ésta se perderá muy rápidamente. El cuidado de la salud y de producción que se da a los animales, debe de documentarse de tal manera que permita una rápida revisión y fácil uso de la información. Los registros médicos pueden realizarse de diferentes formas. Debido a que a los roedores generalmente se les trata por grupos, muy rara vez existen registros individuales. Para ellos, los datos en los libros, las hojas consolidadas o las tarjetas de las cajas, pueden ser suficientes para proporcionar la información que se necesita para manejar estos animales e interpretar su respuesta en la investigación. Los animales más grandes como los conejos, gatos, perros y primates no humanos, requieren el uso de registros individuales. Estos registros deben incluir el origen del animal, su fecha de nacimiento, su fecha de llegada al bioterio, nombre del investigador y número telefónico, número de protocolo de investigación al cual están asignados, todos los cuidados médicos que ha recibido y finalmente cual será el destino del animal.

Los registros usualmente se mantienen en folders con toda la información y los resultados de laboratorio a un lado para su observación diaria, programas de salud y los tratamientos por el otro lado. En algunos bioterios estos registros pueden ser mantenidos en computadoras. Los problemas médicos y los tratamientos deben ser registrados sistemáticamente y en forma completa, proporcionando una fácil recopilación de estos datos, así como todas las pruebas médicas, enfermedades y tratamientos que se les hizo a cada animal. Los registros deben contener la siguiente información:

1. Que a notado el técnico de laboratorio, investigador, técnico veterinario o veterinario, que esta mal con el animal.
2. Aquellas cosas que pueden ser medidas o vistas.
3. La interpretación de cualquier condición del animal, incluyendo un diagnóstico diferencial.
4. Los procedimientos para el tratamiento del daño o enfermedad, incluyendo pruebas de laboratorio o cirugía en caso de que haya sido requerida.

#### **Aislamiento**

Para prevenir la transmisión de enfermedades infecciosas de los

animales que están visiblemente enfermos o sospechosos de presentar o poseer organismos infecciosos, a éstos se les debe aislar y separar en un área diferente a la de los animales sanos. El cuidado y el tratamiento de los animales en aislamiento debe ser realizado por alguien que no está normalmente en contacto con animales sanos. Si esto no es posible debido a la poca cantidad del personal o su capacidad, los animales sanos deben de ser atendidos primero.

Cuando se realiza el cuidado o manejo de animales en área de aislamiento, se debe de cambiar la bata, cubrebocas, zapatos, guantes, máscaras y cofias antes de regresar al área de los animales sanos. Dependiendo del agente infeccioso o agentes de los cuales se sospecha están presentes en el área de aislamiento, es aconsejable que el personal se de un regaderazo o se cambie completamente de ropas antes de regresar al área de los animales sanos. Si no es posible realizar un aislamiento efectivo, los animales enfermos deben de ser sacados del cuarto y sacrificados por un método eutanásico, para ayudar a prevenir la transmisión de enfermedades a los otros animales en el cuarto.

#### **Disposición de Cadáveres**

Los animales muertos deben rápidamente ser sacados de los cuartos, dado que los cuerpos se descomponen rápidamente y se convierten en vectores para la transmisión de agentes infecciosos. La necropsia debe ser realizada inmediatamente, debido a que la descomposición del cadáver comienza en el momento de la muerte y gradualmente lo utiliza para este propósito. La refrigeración de los cadáveres retrasa el proceso de descomposición gradual. Los animales a los cuales se les va a realizar la necropsia más tarde, nunca deben ser congelados, dado que se forman cristales de hielo que destruyen la apariencia microscópica y dañan los tejidos. Si los animales fueron expuestos a materiales peligrosos como, radioisotopos, agentes infecciosos, o sustancias químicas como parte del experimento, estos deben ser manejados con mucho cuidado. Los cadáveres de estos animales deben ser colocados en bolsas dobles que eviten el escurrimiento de líquidos provenientes del animal. Las bolsas deben estar etiquetadas claramente indicando el tipo de sustancia peligrosa con la cual el animal fue trabajado. Estos cadáveres deben ser almacenados en un refrigerador especial. El personal que va a realizar la necropsia de estos animales debe de ser advertido de los contaminantes o sustancias con los cuales los animales estuvieron en contacto, para que estas personas puedan tomar las medidas de protección necesarias.

Se podría considerar que el material de cama de los animales de laboratorio es un desecho ordinario, claro, dependiendo de su uso, estos productos generalmente son considerados como desecho médico por lo que deben ser incinerados. Si no existe un equipo para incinerar los cadáveres en el lugar, debe entonces empacarseles y asegurarse que sean enviados a un lugar donde si puede existir este proceso. Nunca se deben arrojar los cadáveres a los botes de basura ordinarios. Los cadáveres de animales que fueron expuestos a estos materiales peligrosos deben de ser tratados de tal manera, que



aseguren que esa sustancia peligrosa no va a estar en contacto, o va a ser un riesgo para la salud de otros individuos, incluso durante su transporte. Por ejemplo, cadáveres que han sido expuestos a radioactividad deben de mantenerse por un período usualmente de diez vidas medias del radioisotopo utilizado (si el isótopo es uno de los que decaen rápidamente), para reducir el riesgo de contaminación por radiactividad. Si no es posible realizar esto, entonces se deberán realizar arreglos para enterrar estos cadáveres en un sitio apropiado. Antes de desechar los cadáveres de animales que presentaron agentes infecciosos, estos deben de ser sometidos a un proceso de esterilización por el autoclave para desactivar a los agentes. Es importante que el desarrollo de estos procedimientos esté coordinado por personal del bioterio entrenado en seguridad del trabajo.

**RECORD OF DISPOSITION OF DOGS OR CATS**

SALE  EXCHANGE OR TRANSFER  DONATION

DATE OF DISPOSITION

1 OF

**INSTRUCTIONS:** Complete applicable items 1 thru 13. Original and USDA Copy to be retained by seller.

\* DEALER'S LICENSE NO. OR RESEARCH FACILITY REGISTRATION NO.

**Buyer's Copy to accompany shipment. When delivery is made Buyer must complete items 14 thru 20 in delivery receipt. It must be retained by Buyer.**

5. SELLER'S SELLER OR DONOR (Name & Address include ZIP Code)

6. BUYER OR RECEIVER (Name & Address include ZIP Code)

7. USDA LICENSE NO. (If Any)

**BREED ABBREVIATIONS - DOGS (Col. G)**

BE - Beagle	CK - Cocker Spaniel	FT - Fox Terrier	GS - German Shepherd	LR - Labrador Retriever	SH - German Short Hair
BT - Black & Tan	CL - Collie	FX - Foxhound	MK - Musky	MA - Mastiff	SN - Schnauzer
BX - Boxer	DB - Doberman	GD - Great Dane	IS - Irish Setter	PO - Poodle	WI - Weimaraner
CC - Chow Chow	DL - Dalmatian	GH - Greyhound	DH - Dachshund	RB - Red Bone	Other (Specify)

**BREED ABBREVIATIONS - CATS (Col. G)**

**TYPE OR MONGREL (Col. G)**

AB - Abyssinian	MX - Manx	SI - Siamese	AC - Alley Cat	HN - Hound	TY - Toy
BU - Burmese	PR - Persian	Other (Specify)	BD - Bird Dog	TI - Tiger	XX - Mongrel
DS - Domestic Short Hair	HM - Himalayan		CA - Calico	TR - Terrier	Other (Specify)

**8. IDENTIFICATION OF EACH ANIMAL BEING DELIVERED**

TATTOO OR USDA TAG NO.	DESCRIPTION OF BREED, TYPE OR MONGREL										RESEARCH FACILITY USE						
	DOG (♂)		CAT		AGE (yr)		WT.	DISTINCTIVE MARKS	BREED, TYPE OR MONGREL (If Mongrel show)	IF TYPE OR MONGREL, DESCRIBE (Hair, Tail, Ears, Color, etc.)		NO. ASSIGNED BY FACILITY					
	M	F	M	F	YOUNG	ADULT							D	E	F	G	H
A	M	F	M	F													
	M	F	M	F													
	M	F	M	F													
	M	F	M	F													
	M	F	M	F													
	M	F	M	F													
	M	F	M	F													
	M	F	M	F													

9. DELIVERY BY (Check one and complete applicable items 10 thru 13)

COMMERCIAL SHIPPER

BUYER'S TRUCK

SELLER'S TRUCK

10. BILL OF LADING NO.

11. TRUCK LICENSE NO.

12. NAME & ADDRESS OF COMPANY OR FIRM (ZIP Code)

13. NAME & BUSINESS ADDRESS OF TRUCK DRIVER (ZIP Code)

**DELIVERY RECEIPT - COMPLETED BY BUYER OR RECEIVER**

14. ANIMALS DELIVERED WERE (Check one)

IN APPARENT GOOD CONDITION

POOR CONDITION

REJECTED

IF REJECTED, GIVE REASON

15. TOTAL NO. RECEIVED

16. NO. DEAD

17. NO. ALIVE

18. BY (Signature)

19. TITLE

20. DATE

Figura 11.1 Reproducción de la forma 18-6 del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos. La cual nos indica los requerimientos que se deben cumplir para la compra y suministro de perros y gatos de laboratorio. Estas u otras formas muestran toda la información requerida que debe acompañar a los perros y gatos de laboratorio sujetos a investigación.

## CAPITULO DOCE

### GNOTOBIOLOGIA

Gnotobiología significa literalmente "vida conocida", es el estudio de los animales en los cuales se conoce completamente su microflora y su microfauna. Actualmente existe la tendencia entre la gente que se dedica a animales de laboratorio a equiparar el término de gotobiología con el de estudio, producción y cuidado de los animales libres de microorganismos. Esto es estrictamente cierto, dado de que los animales libres de microorganismos es únicamente un tipo de los animales gnotobióticos, de aquellos que son libres de todo microorganismo detectable. Otro tipo de definición menos exacto puede ser, animales que contienen pocos microorganismos de los cuales ninguno es un patógeno principal.

Aunque el primer artículo sobre el desarrollo de animales libres de microorganismos (cobayos) fue publicado en 1897, la gnotobiología es una ciencia relativamente moderna. La primera rata libre de microorganismos fue establecida en 1948. Las primeras investigaciones de animales libres de microorganismos realizadas en los años 50s, fueron desarrolladas en aisladores rígidos hechos de acero inoxidable o de acero y cristal. Estos aisladores eran muy grandes, pasados y muy costosos. En 1957, el aislador de plástico flexible de Trexler fue un sistema que inició el desarrollo de la gnotobiología moderna. Las primeras ratas y ratones gnotobióticos comercialmente disponibles se iniciaron alrededor de los años 60s. La aplicación práctica de la tecnología con la cual se ha desarrollado en los últimos 25 años, ha realizado profundos cambios en la calidad y el tipo de los animales disponibles para la investigación. Debe de mencionarse que el crédito para este avance en la gnotobiología, se debe a los científicos y técnicos del Instituto Lobund de la Universidad de Notre Dame, quienes desarrollaron los primeros modelos de animales libres de microorganismos.

Existen otros términos con los que usted debe estar familiarizado, con el objeto de tener una mejor comprensión de la ciencia de la gnotobiología. Uno de éstos es gnotobiotiote, el cual se refiere a un animal con una flora y fauna definidas; en términos del conocimiento general todos los microorganismos residentes en un animal o en este tipo de animales están identificados. Un sinónimo para gnotobiótico o gnotobiotiote es el de animal con flora definida. Otro importante término es el de libre de gérmenes (LG), al cual se refiere a un animal axénico; esto es al cual no se le encuentra ningún microorganismo asociado. Asociación de un animal libre de microorganismos, es el proceso de colonización de su tracto gastrointestinal con una flora definida.

#### EQUIPO PARA EL MANTENIMIENTO DE ANIMALES GNOTOBIOTICOS

Aisladores: Un aislador o sistema de aisladores, es un dispositivo que aísla los animales del medio ambiente externo,

tanto evitando que los microorganismos del medio ambiente entren al aislador, o confinando microorganismos potencialmente patógenos dentro del sistema. Un aislador puede ser tan pequeño como una caja de ratones cubierta con filtros, o tan grande como un cuarto. Este puede estar construido de cualquier material que sea impermeable al paso de los microorganismos.

Generalmente, hay dos tipos de aisladores; el tipo rígido, el cual está construido de acero inoxidable o plexiglass, y el tipo flexible, el cual está hecho de polivinilo transparente o plástico de poliuretano (Fig. 12.1). Los aisladores flexibles son considerados menos caros que los de acero inoxidable y pueden ser manufacturados de una manera muy económica en diferentes tamaños y formas. El desarrollo de los aisladores de plástico o flexibles, hace que los estudios gnotobióticos sean factibles de financiar para cualquier institución que realice investigación.

El tipo antiguo de aisladores, conocido como Horsfall, aún se utiliza en algunos bioterios. Se parece mucho a una caja sólida convencional, pero la puerta o la tapa contiene filtros que limpian el aire anterior que llega.

Todos los sistemas de aisladores sin importar su tamaño o tipo, tienen que proveer control de temperatura y humedad, un mecanismo para controlar el número de horas de iluminación y de oscuridad, una fuente de aire estéril y un medio de expulsión del aire. Ellos también deben proporcionar un medio por el cual los animales, cajas y suministros, puedan ser manipulados dentro del aislador (usualmente con guantes de neopreno construidos dentro del mismo). Excepto para los microaisladores, los cuales utilizan un sistema diferente del cambio de comida, agua, cama y equipo, los aisladores deben tener un puerto de entrada que tiene una tapa interna y una tapa externa para asegurar un sello. Varios materiales pueden ser pasados a través de estas puertas sin el riesgo de que se contaminen los animales.

El mayor número de patógenos es llevado por contacto directo o por fomites más que por partículas en el aire. Por lo tanto, la producción y las técnicas de investigación o procedimientos tales como la alimentación, proporción de agua de bebida, inmovilización y cambio de cajas deben realizarse con suministros estériles y usando la técnica aséptica. Los animales no deben ser tocados por la mano desnuda. Para mantener exitosamente animales gnotobióticos en aisladores o en gabinetes de flujo laminar, deben mantenerse condiciones absolutamente de esterilidad en estas unidades.

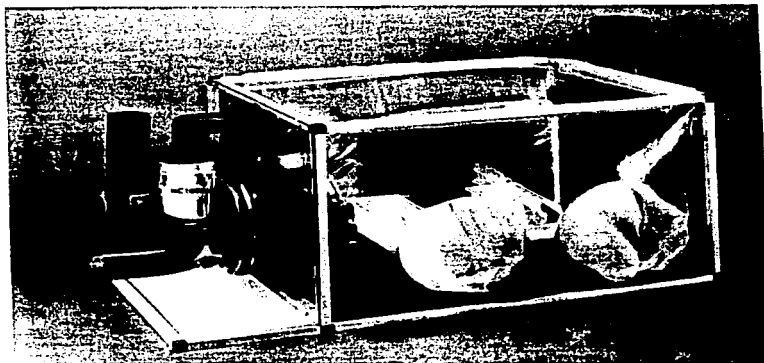


Figura 12.1. Aislador flexible de plástico el cual es utilizado para realizar el mantenimiento y procedimientos de investigación de animales gnotobióticos. La unidad filtra apropiadamente todo el aire que penetra y el equipo y los animales son manejados únicamente con guantes que están contruidos conjunto con la unidad.

**Cilindro de Suministros:** Un cilindro de suministros, es un cilindro de acero inoxidable que contiene los materiales que van a ser suministrados al aislador y que por lo tanto fueron esterilizados. Estos cilindros están disponibles en varios tamaños para el uso con diferentes aisladores. El diámetro de los cilindros de suministros es el mismo que el del puerto de entrada del aislador para el cual fue hecho; esta conexión con el puerto de entrada se puede realizar a través de una manga de transferencia. Alrededor del cuerpo del cilindro o en la terminación cerrada ( el cilindro también tiene una porción de entrada ), existen perforaciones o ranuras que están cubiertas con material de fibra de vidrio. Estas permiten el paso del vapor o el gas a través del material filtrante y de la ranura hacia el interior del cilindro, donde el material que contienen es esterilizado después que los suministros del aislador son colocados dentro del cilindro, la porción abierta es cubierta con una delicada capa de material plástica autoclavable, película mylar. Posteriormente el cilindro es colocado en un autoclave o en una cámara de esterilización de óxido de etileno.

**Mangas de Transferencia:** La manga de transferencia (fig.12.2), es un tubo de plástico flexible del mismo diámetro de la entrada del puerto y del cilindro de suministro. Existen tubos de conexión en caso de que el cilindro de suministros, sea más pequeño en diámetro que la puerta del aislador. Las mangas tienen una o más entradas que se encuentran tapadas con tapones de plástico.

Después de que la tapa externa del aislador se retira, se realiza una conexión estéril con la manga de transferencia, colocando ésta entre el puerto de entrada del aislador y el cilindro de suministros. La conexión después es esterilizada por aspersión con ácido peracético al 2%, por aproximadamente 30 minutos, para permitir que el proceso de esterilización destruya todos los microorganismos que se encuentran en la superficie y que además la sustancia esterilizante se inactive. Utilizando los guantes del aislador la tapa interna se quita, y con éstos se introduce uno dentro de la manga de transferencia hasta alcanzar la cubierta mylar de la porción abierta del cilindro donde ésta se rompe. Este procedimiento permite que el material esterilizado pueda ser introducido dentro del aislador sin exponer estos materiales al medio externo.

Para remover materiales de desecho o animales destetados del aislador, el proceso es inverso; esto es, se utilizan los guantes del aislador, y los desechos o los animales destetados son colocados en el cilindro de suministros, a través del puerto de entrada y de la manga de transferencia. La tapa interna es posteriormente colocada en su lugar y la manga de transferencia es retirada, la capa externa del aislador es colocada en su lugar y a través de los tubos de la tapa externa se realiza una nueva fumigación del espacio entre las dos tapas. Los aisladores flexibles y las mangas de transferencia, también pueden ser probadas para escapes con Freón colorado.



Figura 12.2. Esto es una manga de transferencia. Está fijado de una manera estéril entre el cilindro de suministro y una película flexible aislante para facilitar el mover los materiales desde el cilindro de suministro al aislador y viceversa.

Gabinetes de Flujo Laminar: Los gabinetes de flujo laminar o cubículos de flujo laminar, proporcionan a una caja o a un anaquel, un ambiente con grandes volúmenes de aire que se mueve lentamente en dirección lineal, además de ser filtrado y encontrarse estéril. Algunas unidades pueden mantener únicamente unas cajas de roedores, o algunas unidades pueden ser del tamaño de un cuarto y pueden por lo tanto mantener cientos de cajas. Bajo condiciones estrictas de producción, los animales gnotobióticos pueden mantenerse en estos tipos de sistemas por muchos meses. La razón para el uso del flujo laminar, es la de remover los microorganismos del aire que rodea inmediatamente a las cajas, evitando la introducción de patógenos respiratorios.

En años recientes las unidades de flujo laminar han empezado a utilizarse ampliamente. Los animales están más accesibles que dentro de los aisladores, así mismo estas unidades pueden proporcionar una barrera local ambiental en un ambiente que puede ser el cuarto o edificio convencional.

#### **ESTERILIZACION**

Esterilización, la cual se refiere a la completa aniquilación de todos los microorganismos vivos, es crucial para el éxito en el mantenimiento de animales gnotobióticos. La esterilización puede acompañarse por un número de métodos diferentes, abajo se menciona en forma de lista los métodos de esterilización.

- . Autoclaveado por vapor
- . Calor seco
- . 2% de ácido paracético.
- . Oxido de etileno.
- . Irradiación gamma.
- . Luz ultravioleta.
- . Formaldehido.

. Yodo: Una solución yodada puede ser utilizada en tanques de inmersión para la esterilización de equipo y material vivo que no puede ser dañado por agentes químicos.

. Membranas de filtración: Los líquidos pueden ser esterilizados, pasándolos a través de filtros con poros, que por su tamaño no permitan el paso de bacterias u organismos contaminantes mayores.

- . Dióxido de cloro.

#### **METODOLOGIA PARA GNOTOBIOTICOS**

Existen dos grandes áreas de la gnotobiología en la ciencia de los animales de laboratorio. Una, es el estudio de animales axénicos, los cuales son animales que están completamente desprovistos de todo microorganismo. La investigación básica con animales axénicos involucra estudios de nutrición, inmunología, longevidad y envejecimiento, patología oral y caries dental, cáncer, reparación de heridas, enfermedades infecciosas y otras áreas importantes del conocimiento médico. La presencia de



microorganismos en animales, usualmente tiene un impacto directo sobre los resultados de la investigación y si no son controladas estas variables se complicarían los resultados de estas investigaciones.

La otra área principal de la gnotobiología, se relaciona con los procesos de eliminación vertical y horizontal de microorganismos patógenos. Este proceso se ha realizado a través de la derivación por cesárea, manteniendo los animales en barrera, lo que a producido animales con una alta calidad, libres de enfermedades, esto se ha realizado principalmente en ratas y ratones y gradualmente se ha extendido a otras especies. La aplicación de la tecnología gnotobiótica, ha permitido el desarrollo de ambientes protegidos para animales inmunodeficientes, como es el caso del ratón desnudo y la rata desnuda, o de animales que han sido sometidos a un proceso de irradiación o de tratamiento a base de drogas que los vuelve inmunodeficientes. Sin ambientes protegidos, estos animales inmunodeficientes no podrían existir. El cuidado de gente que tiene problemas de inmunodeficiencia o personas que han sido afectadas por terapia con inmunodepresores, no sería posible si la tecnología de gnotobióticos no hubiera sido desarrollada primero en los animales.

Los animales axénicos difieren, tanto anatómicamente como fisiológicamente de los animales que tienen una microflora. Por ejemplo, por razones aún no bien conocidas para la ciencia la pared intestinal de los animales axénicos es mucho más delgada que la pared intestinal de los animales con una microflora. Los animales axénicos se caracterizan por un pobre desarrollo muscular. Los niveles enzimáticos de los tejidos, tienden a ser más bajos que los de los de los animales no axénicos. Su sistema inmune esta menos desarrollado, ellos tienen nódulos linfoides, placas de peyer y timo mucho más pequeños que los animales no axénicos. Esto se debe a que los órganos de estos animales, no han sido expuestos a una estimulación antigénica. Ellos tienen bajos niveles de células blancas y de conteo de linfocitos. Estos absorben mejor las grasas de las dietas, tienen altos niveles de colesterol en la sangre y también tienen mayores niveles de renovación o de evacuación de bilis. Los animales axénicos, tienen muy desarrollado el ciego (aproximadamente cinco veces más que el tamaño normal en un conejo y en un roedor) y tienen un contenido cecal y de heces mucho más alcalino y fluido que los animales no axénicos. En los animales axénicos, el peristaltismo y la renovación del epitelio intestinal es mucho menor.

Los animales axénicos tienen un período de vida mucho mayor que el de los no axénicos y en el caso de las ratas tienen la menor incidencia de tumores espontáneos. Además, el metabolismo basal y la frecuencia cardiaca son menores en las ratas axénicas; ellos tienen corazones, hígados y pulmones más pequeños que los de las ratas no axénicas.

Los requerimientos nutricionales también son diferentes para los animales axénicos. Ellos tienden a tener altos requerimientos con respecto a los no axénicos, para el total de alimento, así como para el consumo de agua, vitamina K, vitamina B y colina. Ellos tienen bajos de requerimientos para vitamina A, lisina, cistina y vitamina E, comparados con los no axénicos. Debido a que ciertos nutrientes esenciales son destruidos por altas temperaturas durante el autoclaveado (la más notable de éstas es la tiamina y vitamina A), las dietas para animales gnotobióticos tienen que ser fortificadas por el productor.

Los productores comerciales de roedores, típicamente realizan varios pasos antes de la introducción de un animal libre de enfermedades en una barrera de producción. El primer paso es la derivación por cesárea. Para realizar este procedimiento la madre donadora preñada de una cepa o una línea, que aún no se dispone en estado axénico, es anestesiada a término. El inicio de este procedimiento, es determinado a través de la palpación y la terminación del tiempo de gestación y por otros signos físicos. Primero el útero es removido por una técnica quirúrgica estéril. Entonces éste es pasado a través de un tanque de inmersión que contiene una sustancia germicida (usualmente un agente altamente oxidante como el blanqueador cloro o yoduros) y pasada a un aislador quirúrgico. En el aislador los fetos son removidos del útero, secados y colocados en un colchoncillo caliente. Después de que inicia su respiración normal y después de que las crías adquieren una coloración rosada, éstos son adoptados por una madre axénica nodriza.

La nodriza es colocada dentro del aislador quirúrgico y sus crías son removidas antes de que se realice la derivación cesárea de las nuevas crías. El tiempo de realización de la cesárea en la hembra donadora (tan próxima a término como sea posible) y la disponibilidad de madres nodrizas recién paridas son esenciales para realizar este procedimiento. La madre donadora es seleccionada seis a ocho horas antes del parto. (La sobrevivencia de las crías cae drásticamente si la cesárea se desarrolla con más de doce horas antes de su parto normal). La aceptación de las crías por la madre puede ser seriamente alterada, si ella tiene sus propias crías por más de dos días antes que le sean retiradas.

Las nodrizas, usualmente se seleccionan de cepas de ratón y ratas que normalmente tengan muchas crías en sus camadas y sean buenas productoras de leche. Ellas también se seleccionan de cepas que no cuentan con antecedentes de canibalismo.

Para mantener la integridad genética, se deben retirar todas las crías de las madres nodrizas. Además de los errores en el registro, fallas en retirar a todas las crías, proporciona fuentes potenciales de contaminación de los bancos genéticos, especialmente si la madre nodriza y las crías en adopción son del mismo color. Las crías recién nacidas de la madre nodriza pueden ser confundidas

si son colocadas con la camada adoptiva. Al destete estas crías si no son fenotípicamente diferentes se puede asumir que fueron de las derivadas por cesárea. La contaminación genética de este tipo es difícil de detectar y puede tomar varias generaciones antes de que pueda ser descubierta. Por estas razones es importante seleccionar madres que tengan un color diferente de las crías en adopción.

La lactación por madres axénicas requiere que existan animales libres de microorganismos disponibles. Dado que las ratas y los ratones pueden comprarse comercialmente, realmente cualquier cepa puede entonces ser derivada por cesárea. Los primeros ratones y ratas libres de microorganismos tuvieron que ser alimentados a mano con una fórmula de leche estéril. Este es el caso si se desea derivar por cesárea otra especie de mamíferos como perros, gatos y animales mayores, dado que madres nodrizas libres de microorganismos para estas especies no se encuentran comercialmente. Es de interés marcar que los hamsters nacen después de 16 días de gestación y que no han sido derivados por cesárea. Otras especies de roedores no aceptan a las crías de hamsters y un reemplazo adecuado para la dieta de estas crías de hamsters no se ha encontrado hasta ahora.

El siguiente paso en la derivación por cesárea, es el monitoreo microbiológico de las crías que han sido derivadas por cesárea, esto se hace para asegurarse que no ocurra contaminación durante el procedimiento quirúrgico y que los agentes conocidos que pasan la placenta no fueron llevados a estas crías. La infección por micoplasma del útero, puede pasar la barrera placentaria e infectar crías que hayan sido derivadas por cesárea. El virus Kilham de la rata, el Coronavirus de la rata, el virus de la Leucemia del ratón y los ascáridos de perro también pueden pasar la barrera placentaria. Estos y otros agentes deben ser detectados en los programas de monitoreo antes de que los animales sean derivados, o seleccionados como candidatos para derivación. En el caso de que una enfermedad o agente causal este latente, pruebas repetidas del uso de inmunosupresión por corticosteroides y otros procedimientos de laboratorio es necesario realizarlos para demostrar cualquier posible reacción.

Una vez que se a asegurado el estado axénico, la mayor parte de los productores comerciales asocian a los animales derivados por cesárea, con un coctel de una flora simbiótica intestinal normal. Una combinación de flora definida fue desarrollada por el Dr. R.W. Schaedler en la Universidad de Rockefeller.

La mayoría de las firmas comerciales han desarrollado su propia cultura bacteriana social, la cual consiste de cualquiera de dos especies de flora bacteriana normal intestinal. Los cocteles más comunes incluyen diferentes especies de bacteroides, especies de lactobacilos, una especie anaeróbica de Streptomices y fermentadores lentos de la lactosa de tipo coliforme.

Métodos para asociación de bacterias a los animales:

- . Administración oral del coctel.

. Administración oral de contenido cecal de un animal convencional.

. Introducción de animales con flora asociada dentro de aisladores, con animales libres de microorganismos.

. Colocación de pellets fecales de un animal con flora asociada, en el agua de animales libres de microorganismos por dos o tres días.

Las ratas y los ratones con flora definida son mantenidos en estado gnotobiótico en colonias de fundación. Sus crías son después transferidas en condiciones asépticas a barreras de expansión y colonias de producción. Durante cada fase se deben de realizar estudios microbiológicos y genéticos de aseguramiento de la calidad.

A pesar de las muchas contribuciones que la gnotobiología ha hecho a la ciencia médica, esta se mantiene como un paso relativamente pequeño de la ciencia de los animales de laboratorio. Conforme las investigaciones con animales de laboratorio se involucran más directamente hacia la necesidad de animales microbiológicamente y genéticamente definidos como sujetos de experimentación, la demanda por el conocimiento y material, así como personal técnico entrenado en la gnotobiología se incrementa. Todos aquellos que están involucrados en el cuidado de los animales de laboratorio, deben de percatarse de la importancia que juega la gnotobiología en la investigación animal y deben por lo tanto seguir continuamente en los avances que se realicen año con año en este campo.

## CAPITULO TRECE

### ENFERMEDADES INFECCIOSAS

Enfermedad es un estado alterado de la fisiología, o un cambio en el cual las funciones normales del tejido, órgano, o un sistema no son adecuadas. Las alteraciones que ocurren en la enfermedad pueden ser reversible o irreversibles y pueden resultar en la muerte de una parte del organismo o del organismo completo. La detección de la enfermedad en los animales se basa sobre los signos (observaciones objetivas), que pueden ser clínicos (detección por métodos físicamente sensibles) o diagnósticos (detectadas por una o más pruebas de laboratorio). Los organismos patógenos que causan infección son bacterias, hongos, virus y protozoarios o parásitos metazoarios.

#### BACTERIAS

Las bacterias son organismos unicelulares que tienen una membrana celular semipermeable, pero no una membrana nuclear. Las bacterias se reproducen asexualmente por fusión binaria. La ciencia que realiza el diagnóstico de la bacteriología emplea una gran variedad de pruebas para identificar bacterias por su morfología, sus características fisiológicas, la caracterización morfológica de las bacterias en forma individual y la morfología de las bacterias en la colonia. La caracterización fisiológica de las bacterias incluye sus requerimientos de oxígeno, de temperatura y de pH, así como también sus requerimientos nutricionales, sus tolerancias químicas y su serotipificación.

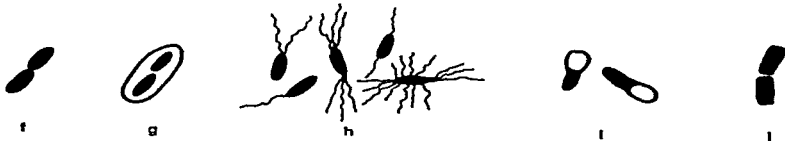
#### Morfología Celular

La morfología celular incluye la forma y tamaño de un microorganismo, la presencia o ausencia de apéndices, formación de cápsula y formación de esporas.

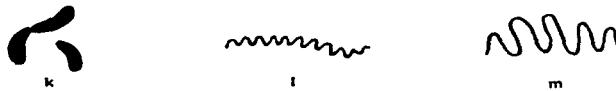
Forma: La forma de una bacteria individual puede ser bacilar (como bastón), cocoide (redonda o esférica) cocobacilar (ovoide), vibroide (bastones curvos), espiralada (helicoidal, bastones no flexibles), o espiroqueta (gruesa helicoidal y de bastón flexible). Existen también bacterias pleomorficas, las cuales presentan más de una forma y muchas de las cuales no son categorizadas, ya que presentan algunas formas extrañas. La Fig.13.1 muestra la representación general de las bacterias más comunes. La Fig. 13.2 muestra los tamaños relativos de varias bacterias comunes y virus.



esférico (coccus)



bastones (bacillus)



espiralado

**Figura 13.1** Tipos comunes de bacterias encontradas en los animales de laboratorio: (a) individual, coco; (b) par, diplococos; (c) cuatro, tetrada; (d) cadena, estreptococos; (e) racimo, estafilococo; (f) bacilo ó cocobacilo; (g) bacilo encapsulado; (h) bacilo flagelado; (i) esporas; (j) bacilo; (k) vibrio; (l) spirillum; (m) espiroqueta.

**Tamaño:** Las células usualmente se miden en micrometros ( $\mu\text{m}$ ); un micrómetro es igual a 1/1000 de milímetro. Las bacterias tienen un diámetro aproximado de 0.02 a 0.2 micrómetros.

**Flagelos:** Los flagelos son apéndices de las bacterias (Fig. 13.1h), son filamentosos con una forma como de látigo, presenta una forma filamentososa simple que sobresale sobre la superficie de la pared bacteriana. Los flagelos pueden encontrarse sencillos.

**Cápsula:** Una cápsula (Fig. 13.1g) es una envoltura protectora externa, la cual está formada de una gruesa lámina de material gelatinoso. No todas las bacterias están encapsuladas.

**Esporas:** Estas son formas dominantes de bacterias que se presentan en algunos géneros (Fig. 13.1i). Las esporas usualmente son resistentes a la destrucción por el calor, acción química, desecación y otras técnicas asépticas. Ellas pueden perdurar por años bajo condiciones que pudieran matar a bacterias en un estado vegetativo. Las bacterias esporógenas de significancia médica, son células de forma bacilar y gram positivas. Las especies de estas bacterias se encuentran en dos géneros: *Bacillus* (aerobicas y *Clostridium* (anaerobica). El efecto patológico de clostridia, es ocasionado por potentes exotoxinas, las cuales no siempre son peligrosas si se ingieren o se liberan en el tracto intestinal, pero pueden ser muy dañinas cuando se liberan directamente en los tejidos. Tétanos, por ejemplo, es una enfermedad causada por exotoxinas de las bacterias de *Clostridium tetani*.

#### **Morfología de la Colonia**

La caracterización morfológica de las colonias bacterianas, se basa en la observación de la forma de la colonia completa sobre un medio sólido. Las colonias pueden describirse por su elevación sobre la superficie del medio, la forma de las orillas de la colonia, tipo, la textura y la consistencia del crecimiento, refracción y reflexión de la luz y por la pigmentación.

#### **Identificación**

Las bacterias se pueden describir y diferenciar de acuerdo a los cambios que ocurren como resultado de las reacciones de sus productos metabólicos. Estos cambios pueden incluir variaciones en el pH del medio o la hemólisis de células sanguíneas rojas incorporadas en el medio.

**Tinción:** La tinción es una técnica que permite diferenciar especies de bacterias. La tinción puede ser utilizada en bacterias vivas o en películas de bacterias muertas. Estas tinciones incluyen entre otras, la tinción de Gram, la tinción ácido resistente y la tinción de esporas. Con la tinción de Gram, las bacterias se tiñen de color azul oscuro cuando son especies de tipo Gram (+), las otras que se tiñen de rojo son especies de tipo Gram(-). Diferencias en la tinción de Gram están relacionadas con la diferente composición de las paredes bacterianas.

**Motilidad:** La observación bajo el microscopio de luz, de la motilidad de una bacteria en una preparación húmeda, revela que este organismo puede hacer movimientos rápidos y progresivos. Así mismo la motilidad de la colonia bacteriana se observa como un crecimiento difuso, que irradia del punto en que se inició el sembrado en el medio de cultivo sólido.

#### **Fisiología Bacteriana**

**Oxígeno:** La respiración bacteriana se refiere a los requerimientos de oxígeno de las bacterias. Las bacterias aeróbicas, por ejemplo, crecen en presencia de concentraciones atmosféricas normales de oxígeno (aproximadamente 20%). Las bacterias micro-aerofilicas, logran un máximo crecimiento en la presencia de únicamente trazas de oxígeno. Las bacterias anaeróbicas crecen en ausencia de oxígeno.

**Temperatura:** La mayoría de las especies bacterianas crecen satisfactoriamente a 37°C. Algunas, sin embargo, logran un activo crecimiento a temperaturas mucho más altas y otras crecen mucho mejor a temperatura ambiente o incluso menores.

**Nutrición :** Algunas bacterias requieren nutrientes que son ricos en suero animal, u otros nutrientes de diferente fuente. La especificidad de una cepa, varía con sus requerimientos y puede ser utilizada en la preparación de numerosos medios selectivos para formar agares diferenciales (medios de cultivo).

**Tipificación Serológica:** El suero que contiene anticuerpos conocidos contra un antígeno bacteriano, reacciona con el organismo que contiene el antígeno y no con otro organismo. Este tipo de sueros son útiles en la identificación o tipificación bacteriana. Los géneros comúnmente serotipificados son Salmonella, Shigella y Streptococcus.

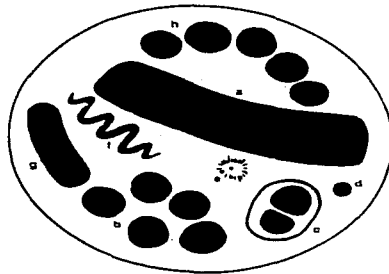
**Reacciones Bioquímicas:** El reconocimiento de reacciones químicas por los productos en un cultivo bacteriano puro, es un importante método de diagnóstico bacteriológico. Estas reacciones por producto, pueden incluir cambios en el pH de un medio de cultivo, producción de gas sulfhídrico, fermentación de carbohidratos específicos, licuefacción de gelatina, hidrolización de urea, por nombrar algunas.

#### **HONGOS**

Micología es el estudio de los hongos. Los hongos así como las levaduras y los mohos (los cuales son clasificados como hongos), también son responsables de numerosas enfermedades en los animales.

Los métodos empleados para el aislamiento y estudio de los hongos en cultivos puros, son generalmente similares a los utilizados para bacterias. Los mohos, sin embargo, generalmente crecen más lentamente que las bacterias. Si ambos están presentes en el material que va a ser examinado, el más rápido crecimiento de las bacterias, dificulta el obtener cultivos puros de hongos.





**Figura 13.2.** Para ilustrar el tamaño relativo de varios microbios que se encuentran en los animales de laboratorio, ellos han sido dibujados dentro de una célula representativa de mamíferos, un glóbulo rojo (círculo) el cual mide aproximadamente 7.5 micrómetros de diámetro. Los organismos están identificados como sigue: (a) Bacillus anthracis; (b) Staphylococcus aureus; (c) Diplococcus Pneumoniae (con cápsula); (d) Vaccina virus; (e) Virus de la fiebre amarilla; (f) Treponema pallidum; (g) Escherichia coli; (h) Streptococcus pyogenes. (Adaptado de Anderson, ed. Patología. C.V. Mosby Co., St Louis, Missouri, 1966).

Dado que los hongos pueden tolerar condiciones ácidas mucho mejores que las bacterias, cultivos puros o cercanamente puros de hongos, pueden crecer en medios ácidos como el Agar Saboraud. Para observar hongos en fresco bajo el microscopio, se utiliza azul de lactofenol como medio de montaje líquido.

#### **Micosis Superficiales**

Los dermatofitos son un grupo de hongos que infectan la superficie y los tejidos, particularmente la piel y el pelo. Las lesiones causadas por estos dermatofitos, generalmente aparecen en varias formas sobre la cabeza y las áreas del pecho. Estas pueden aparecer como incrustaciones alrededor de algunos pelos pequeños, como pequeñas áreas circulares carentes de pelo, así como pequeñas escoriaciones de la piel o como lesiones elevadas con pústulas. Las lesiones pustulares son típicas de infecciones secundarias bacterianas. Si no son tratadas, estas lesiones pueden persistir por semanas o meses, con desarrollo de nuevas lesiones en otras áreas. En algunas ocasiones las lesiones pueden regresar espontáneamente. Los géneros representativos incluyen *Microsporum*, *Trichophyton* y *Epidermophyton*.

#### **Micosis Sistémicas**

En los últimos años, los clínicos han comenzado a preocuparse por un incremento en la frecuencia de enfermedades fungales sistémicas en animales, especialmente en perros. Los hongos patógenos crecen como saprofitos en el suelo y desechos orgánicos de ciertas áreas geográficas, pero debido a que los animales rutinariamente son transportados hacia diferentes lugares, casos individuales pueden ocurrir lejos del sitio que fue reconocido como una área enzootica. Las lesiones son usualmente granulomatosas y el organismo se encuentra en el centro de la masa necrótica. El extensivo uso de antibióticos y cortisona está contraindicado, dado que tienden a causar una rápida diseminación de la enfermedad. Géneros representados incluyen *Blastomyces* e *Histoplasma*. *Candida* y *Cryptococcus* sp., son levaduras las cuales pueden ocasionar infecciones oportunistas.

#### **VIRUS**

Los virus son las más pequeñas y simples entidades biológicas. Estas tienen únicamente un tipo de ácido nucleico: ya sea RNA (ácido ribonucleico) o DNA (ácido desoxiribonucleico). Estas moléculas de ácidos nucleicos contienen toda la información genética de los virus y mantienen la continuidad genética a través de generaciones sucesivas. Las moléculas de ácido nucleico están rodeadas por una cubierta protéica.

Además de su tamaño pequeño, la característica fundamental que diferencia a los virus de otros organismos, son sus atributos de la vida, motilidad, irritabilidad, metabolismo, respuesta a los estímulos y la habilidad para reproducirse, los virus poseen únicamente la habilidad para reproducirse, pero lo pueden hacer únicamente con la ayuda de células infectadas. Los virus no pueden

reproducirse independientemente. La reproducción viral es muy diferente de la de cualquier otro organismo. Un agente viral debe penetrar a una célula hospedadora con el objeto de obtener DNA o RNA necesario para su replicación. Al entrar a la célula y perder su identidad se desdobra en sus partes. La cubierta protéica se pierde y el ácido nucleico viral se incorpora al de la célula hospedadora, entonces se presenta un nuevo juego de instrucciones en la célula hospedadora. Estas nuevas instrucciones dirigen a la célula hospedadora hacia la síntesis de los nuevos componentes virales. Después de que un cierto número de partículas virales intactas han sido sintetizadas, la célula hospedadora libera estas partículas en los tejidos o fluidos que la rodean.

Los animales pueden ser infectados por muchos tipos de virus. Algunos virus son específicos para un tipo particular de célula hospedadora y pueden infectar únicamente tejidos que contengan ese tipo de célula. Otros, sin embargo, son capaces de infectar muchos tipos de células.

Los virus más pequeños tienen un diámetro de aproximadamente 20 nanómetros (nm), y los más grandes tienen un diámetro de aproximadamente 200 a 300 nm; por comparación, una célula roja sanguínea tiene un diámetro de aproximadamente 7000 nm, o 7 micrómetros. Para ver a la mayoría de los virus es necesario la utilización del microscopio electrónico y técnicas especiales. El tamaño y la forma de cada partícula viral de un tipo dado, es relativamente constante. Los virus animales pueden ser clasificados por el tipo de ácido nucleico que contienen: DNA o RNA. Tablas 13.1 y 13.2 dan ejemplos de estos.

Tabla 13.1 Virus DNA de roedores de laboratorio\*

Virus	Rata	ratón	Hámster	Cobayo
Polyoma, k	Y (Desnuda)	Y	Y	N
Adenovirus de ratón	Y	Y	N	Y
Cytomegalo virus (CMV)	Y	Y	N	Y
Tímico	N	Y	N	-
Ectromelia	Y (viruela bovina)	Y	N	N
Virus diminuto del ratón (MVM)	Y (virus de la rata-RV)	Y	Y	N

Y= Infecta estas especies.

N= No infecta estas especies.

\* Modificado de: Bhatt, P.N. et al., eds. *Viral and Mycoplasmal of Laboratory Rodents*. Academic Press, Orlando, Florida, 1986.

Tabla 13.2 Virus RNA de roedores de laboratorio*				
Virus	Rata	Ratón	Hámster	Cobayo
Theiler	N	Y	N	Y
Virus elevador de la deshidrogenasa láctica	N	Y	N	N
Sendai	Y	Y	Y	Y (SVS)
Virus de la neumonía del ratón	Y	Y	Y	Y
Virus de la coriomeningitis linfocítica	Y	Y	Y	Y
Virus de la hepatitis del ratón	SDAV**	Y	N	N
Hantaan	Y	N	N	N
Reovirus 3	Y	Y	Y	Y
Virus de la diarrea epidémica del ratón infante	N	Y	N	N
Leucemia	Y (MTV++)	Y	Y	Y (similar a MTV)

Y= Infecta estas especies.

N= No infecta estas especies.

\*\* SDAV= Virus sialodacryoadenitis.

++ MTV = Virus de tumor mamario.

\* Modificado de: Bhatt, P.N. et al., eds. Viral and Mycoplasmal Infections of Laboratory Rodents. Academic Press, Orlando, Florida, 1986.

**Virus DNA**

Los poxvirus, adenovirus, herpes virus y virus polyoma-papiloma todos contienen DNA.

Los poxvirus son los virus más grandes de este tipo. Ellos ocasionan muchas de las enfermedades de la piel y ocasionan severas enfermedades en los humanos, la oveja, la cabra y en varias especies de roedores y aves.

Los adenovirus también están ampliamente difundidos. En los humanos ocasionan catarro y otras enfermedades respiratorias, así como enfermedades intestinales. Algunos adenovirus son capaces de inducir neoplasias en hamsters y ocasionan hepatitis en el perro.

Los virus del grupo herpes, ocasionan resfriados en los humanos. El virus herpes B, el cual usualmente se encuentra en los monos del Viejo Mundo, puede ocasionar úlceras orales. El herpes B humano, produce frecuentemente enfermedades fetales. Así mismo, en los monos, especialmente algunos monos del Nuevo Mundo, el virus del herpes humano, puede ocasionar su muerte. Debido a la posibilidad de contraer éstas y otras enfermedades zoonóticas, los primates no humanos, deben ser manejados con gran precaución y evitar el contacto con secreciones o excreciones que contengan infección.

De los varios virus papova (papiloma-polyoma-vaccinia), únicamente el virus del polyoma se encuentra en el ratón. El virus SV40 del mono rhesus, es un virus del tipo papiloma que induce neoplasia en otros animales. El virus del papiloma del perro y un virus similar del ganado, pueden ocasionar papilomas orales. Algunos virus humanos, también del tipo papiloma, pueden ocasionar daños en la piel, virtualmente en cualquier parte del cuerpo.

**Virus RNA**

Los orthomyxovirus y paramyxovirus son grandes grupos de virus animales RNA, que son responsables de un gran número de enfermedades respiratorias, incluyendo influenza. Otro grupo viral RNA, enterovirus de los cuales es miembro el virus de la encefalomiелitis del ratón (GD VII), ocasionan enfermedades intestinales y neurológicas en los animales en todos sus tipos. El virus de úlceras en boca y patas del ganado y las ovejas (aftosa), es un enterovirus que esta muy relacionado con el virus de la poliomiелitis.

La mayoría de los arbovirus (transportados por artropodos), pertenecen a la familia Togavirus y también son virus RNA. Garrapatas, ácaros y otros insectos como piojos, pueden transportar estos virus de un animal a otro. Estos virus ocasionan enfermedades como la encefalitis equina del este y del oeste en los caballos y la fiebre amarilla en los monos y humanos.

Los virus únicamente pueden reproducirse en células vivas, pueden ser inoculados a animales vivos, crecer en células o cultivos tisulares para prolongarlos, ya sea para estudios experimentales o de diagnóstico.

**PARASITOS**

Al igual que las bacterias y los virus, los parásitos pasan mucho tiempo de su vida, sobre los tejidos de organismos vivos, u

hospederos, nutridos de una manera que usualmente no es peligrosa o dañina para el hospedero.

Los parásitos, como las moscas y las garrapatas, las cuales viven sobre la superficie externa del hospedero, son llamados ectoparásitos. Los parásitos como las tenias o gusanos redondos, los cuales viven dentro del cuerpo del hospedero, son denominados endoparásitos. Los parásitos pueden vivir sobre o dentro del hospedero continuamente o únicamente cuando se están alimentando. El parasitismo por ectoparásitos o endoparásitos es llamado infestación. Cada tipo de parásito, normalmente vive en un particular tipo de localidad o en un sitio del hospedero en el cual llenan más sus necesidades para su ciclo de vida. Ocasionalmente los parásitos atacan a un hospedero erróneo o aparecen en un sitio inapropiado dentro del hospedero correcto. El hospedero de estos ataques parasitarios aberrantes es llamado hospedero aberrante. La tabla 13.3 proporciona un resumen de los parásitos más comunes de los animales de laboratorio y su localización normal en su hospedero. Dependiendo del número de células que están comprometidas, los parásitos pueden ser clasificados como Protozoarios (una sola célula animal) o Metazoarios (multitud de células animales).

#### **Protozoarios**

Se encuentran cuatro tipos de protozoarios: amibas, flagelados, ciliados y esporas (Fig. 13.3).

Amibas: La amiba más comúnmente patógena es la especie Entamoeba histolytica; esta ocasiona la disentería amibiana. Infecta ratas, perros, gatos (raramente), primates y humanos. La enfermedad es importante en los animales de laboratorio porque primates infectados pueden transmitir la enfermedad a sus manejadores. Simios y primates del Nuevo Mundo son animales más severamente afectados. Este parásito invade el colon y el ciego, ocasionando úlceras y algunas ocasiones diarrea.

La amiba adulta se reproduce por una forma que es denominada trofozoito. Esta se mueve por medio de pseudópodos (falsos pies), los cuales son formados por prolongaciones citoplasmáticas de la membrana. Los trofozoitos se reproducen asexualmente por fisión binaria; el adulto se divide y forma dos nuevos organismos. La mayoría de las amibas parasitarias también forman cistos en algunas etapas de su ciclo de vida. Los cistos son considerados trofozoitos redondeados por una estructura similar a una concha. Estos son altamente resistentes a la disfracción causada por cambios ambientales externos. El hospedero animal los transmite en las heces donde ellos son depositados hasta que son ingeridos por un hospedador apropiado. En el nuevo hospedador elige su ciclo de vida y entonces el nuevo hospedador es infectado.

**Tabla 13.3** Parásitos comunes de los animales de laboratorio y su hospedero normal.\*

Parásito (Nom. Cient.)	Nombre Común	Localización en hospedero.
<b>CESTODOS</b>		
<u>Hymenolepis nana</u>	Tenia enana	Intestino delgado
<u>Hymenolepis diminuta</u>	Tenia de la rata	Intestino delgado
<u>Cysticercus taeniaformis.</u>	Larva de tenia	Quiste hepático
<u>Cysticercus pisiformis.</u>	Larva de tenia	Quiste peritoneal
<b>NEMATODOS</b>		
<u>Syphacia obvelata</u>	Gusano látigo	Ciego, colon
<u>Aspicularis tetraptera</u>	Gusano látigo	Ciego, colon
<b>ARTROPODOS</b>		
<u>Myobia musculi</u>	Acaro Pilicolous	Pelo
<u>Radfordia affinis</u>	Acaro pilicolous	pelo
<u>Myocoptes musculinus</u>	Acaro desnudo	Pelo
<u>Psorergates simplex</u>	Acaro folicular	Folículo piloso
<b>RATA (Rattus norvegicus)</b>		
<b>PROTOZOARIOS</b>		
<u>Encephalitozoon cuniculi</u>	Nosema	cerebro, riñón, hígado
<u>Pneumocystis carinii</u>	Pneumocystis	Pulmón

Tabla 13.3 Parásitos comunes de los animales de laboratorio y su hospedero normal.\*

Parásito (Nom. Cient.)	Nombre común	Localización en el hospedero
<b>RATA (<i>Rattus norvegicus</i>) cont.</b>		
<b>CESTODOS</b>		
<u><i>Hymenolepis nana</i></u>	Tenia enana	Intestino delgado.
<u><i>Hymenolepis diminuta</i></u>	Tenia de la rata	Intestino delgado.
<u><i>Cysticercus taeniaformis</i></u>	Larva de tenia	Quiste hepático.
<u><i>Cysticercus pisiformis</i></u>	Larva de tenia	Quiste peritoneal
<b>NEMATODOS</b>		
<u><i>Trichosomoides crassicauda</i></u>	Gusano de la vejiga urinaria	Vejiga urinaria
<u><i>Strongyloides ratti</i></u>	Gusano perforador	Intestino delgado
<u><i>Syphacia muris</i></u>	Gusano látigo	Ciego, colon
<u><i>Aspiculuris tetraptera</i></u>	Gusano látigo	Ciego, Colon
<b>ARTROPODOS</b>		
<u><i>Radfordia ensifera</i></u>	Acaro Pilicolous	Pelo
<u><i>Myobia ratti</i></u>	Acaro de la rata	Pelo
<u><i>Notoedres notoedres</i></u>	Acaros de las orejas	Orejas
<u><i>Omithonyssus bacoti</i></u>	Acaro tropical de la rata	Pelo
<u><i>Polyplax spinulosa</i></u>	Piojo chupador	Pelo
<b>HAMATERS DORADOS (<i>Mesocricetus auratus</i>)</b>		
<b>CESTODOS</b>		
<u><i>Hymenolepis nana</i></u>	Tenia enana	Intestino delgado



Tabla 13.3 Parásitos comunes de los animales de laboratorio y su hospedero normal.\*

Parásito (Nom.Cient.)      Nombre Común      Localización en el hospedero  
**HAMSTERS DORADOS (*Mesocricetus auratus*) cont.**

**NEMATODOS**

*Syphacia obvelata*      Gusano látigo      Ciego, Colon

**ARTROPODOS**

*Notoedres notoedres*      Acaro      Piel

*Sarcoptes acanthas*      Acaro      Piel

*Demodex aurati*      Acaro      Piel

*Demodex criceti*      Acaro      Piel

**COBAYO (*Cavia porcellus*)**

**PROTOZOARIOS**

*Balantidium coli*      Ciliate      Ciego, colon

*Eimeria caviae*      Coccidia      Intestino

*Klossiella cobavae*      Sporozoa      Riñón

*Toxoplasma gondii*      Ninguno      Diseminado

**NEMATODOS**

*Paraspidodera uncinata*      Gusano del ciego      Ciego, colon

*Trichinella spiralis*      Trichina      Músculo

**ARTROPODOS**

*Gliricola porcelli*      Piojo      Pelo

*Trixacarus caviae*      Acaro escabador      Piel

**Tabla 13.3** Parásitos comunes de animales de laboratorio y su localización normal en el hospedero\*

Parásito (Nom. Cient.)	Nombre común	Localización en el hospedero
<b>CONEJO DOMESTICO (Oryctolagus cuniculus)</b>		
<b>PROTOZOARIOS</b>		
<u>Eimeria stidae</u>	Coccidia del hígado	Vejiga, conductos biliares
<u>Eimeria magna</u>	Coccidia	Intestino
<u>Eimeria irresidua</u>	Coccidia	Intestino
<u>Encephalitozoon cuniculi</u>	Nosema	Cerebro, riñón, hígado
<b>CESTODOS</b>		
<u>Cysticercus pisiformis</u>	Larva de tenia	Peritoneo, mesenterio
<u>Cittotaenia variabilis</u>	Tenia	Intestino delgado
<b>NEMATODOS</b>		
<u>Trichinella spiralis</u>	Trichina	Músculos
<u>Strongyloides papillosus</u>	Gusano perforador	Intestino delgado
<b>ARTROPODOS</b>		
<u>Psoroptes cuniculi</u>	Acaro escabador de las orejas	Orejas
<u>Sarcoptes scabiei var. cuniculi</u>	Acaro escabador del cuerpo	Piel
<u>Cheyletiella parasitovorax</u>	Acaro del pelo del conejo	Pelo
<u>Cuterebra cuniculi</u>	Mosca del conejo	tej. subcutaneo

Tabla 13.3 Parásitos comunes de los animales de laboratorio y su hospedero normal.\*

Parásito (Nom. Cient.)	Nombre Común	Localización en el hospedero
<b>PERRO (Canis familiaris)</b>		
<b>PROTOZOARIOS</b>		
<u>Entamoeba histolytica</u>	Ameba	Ciego, colon
<u>Giardia canis</u>	Flagelado	Intestino delgado
<u>Eimeria canis</u>	Coccidia	Intestino
<u>Isospora bigemina</u>	Coccidia	Intestino
<b>TREMATODOS</b>		
<u>Metorchis conjunctus</u>	Lombriz intestinal	Vejiga
<b>CESTODOS</b>		
<u>Dipylidium caninum</u>	Lombriz en forma de cintilla	Intestino delgado
<u>Taenia pisiformis</u>	Tenia	Intestino delgado
<u>Taenia taeniaeformis</u>	Tenia	Intestino delgado
<u>Multiceps multiceps</u>	Tenia	Intestino delgado
<u>Echinococcus granulosa</u>	Tenia hydatígena	Intestino delgado
<b>NEMATODOS</b>		
<u>Filaroides osleri</u>	Gusano del pulmón	Pulmón, traquea
<u>Trichuris vulpis</u>	Gusano en forma de látigo	Ciego
<u>Capillaria plica</u>	Gusano de la vejiga	Vejiga
<u>Toxocara canis</u>	Gusano redondo	Tejido de intestino delgado
<u>Toxascaris leonina</u>	Gusano redondo	Intestino delgado.

Tabla 13.3 Parásitos comunes de los animales de laboratorio y su hospedero normal.\*

Parásito (Nom. Cient.)	Nombre Común	Localización en el hospedero
<b>PERRO (Canis familiaris) cont.</b>		
<u>Ancylostomum caninum</u>	Gusano en forma de gancho	Intestino delgado.
<u>Ancylostomum braziliense</u>	Gusano en forma de gancho	Intestino delgado
<u>Spirocerca lupi</u>	Gusano esofágico	Esófago, estómago, aorta
<u>Dirofilaria immitis</u>	Gusano del corazón	Corazón, arteria pulmonar
<u>Dipetalonema reconditum</u>	Filaria	Subcutaneo
<u>Diocotophyma renale</u>	Gusano del riñón	Riñón, área peritoneal
<b>ACANTHOCEPHALA</b>		
<u>Onicola canis</u>	Gusanos con cabeza enredada	Intestino delgado
<b>ARTROPODOS</b>		
<u>Demodex canis</u>	Acaro demodecico	Folículo piloso
<u>Sarcoptes scabies</u> var. canis	Acaro escabador	Piel
<u>Otodectes cynotis</u>	Acaro de las orejas	orejas
<b>GATO (Felis Domestica)</b>		
<b>PROTOZOARIOS</b>		
<u>Isospora felis</u>	Coccidia	Intestino
<b>TREMATODOS</b>		
<u>Paragonimus Kelllicotti</u>	Gusano pulmonar.	Pulmones

Tabla 13.3 Parásitos comunes de los animales de laboratorio y su hospedero normal.\*

Parásito (Nom. Cient.)	Nombre Común	Localización en el hospedero
<b>GATO (Felis doméstica) cont.</b>		
<b>CESTODOS</b>		
<u>Dipylidium caninum</u>	Lombriz en forma de cintilla	Intestino delgado
<u>Taenia pisiformis</u>	Tenia	Intestino delgado
<u>Taenia taeniaeformis</u>	Tenia	Intestino delgado
<b>NEMATODOS</b>		
<u>Trichuris campanula</u>	Gusano en forma de látigo	Ciego
<u>Capillaria aerophila</u>	Gusano del pulmón	Pulmones
<u>Capillaria plica</u>	Gusano de la vejiga	Vejiga urinaria
<u>Trichinella spiralis</u>	Trichina	Músculos
<u>Strongyloides stercoralis</u>	Gusano perforador	Intestino delgado
<u>Ancylostomum tubaeforme</u>	Gusano en forma de gancho	Intestino delgado
<u>Uncinaria stenocephala</u>	Gusano ganchudo del Norte	Intestino delgado
<u>Toxocara cati</u>	Gusano redondo	Intestino delgado
<u>Toxascaris leonina</u>	Gusano redondo	Intestino delgado
<u>Dirofilaria immitis</u>	Gusano del corazón	Corazón, arteria pulmonar.

Tabla 13.3 Parásitos comunes de los animales de laboratorio y su hospedero normal.\*

Parásito (Nom. Cient.)	Nombre común	Localización en el hospedero
	GATO ( <i>Felis domestica</i> )	cont.
<b>ARTROPODOS</b>		
<i>Sarcoptes scabies</i> var. <i>cati</i>	Acaro escabador	Piel
<u><i>Notoedres cati</i></u>	Acaro de las orejas	orejas
<b>PRIMATES DEL VIEJO MUNDO</b>		
<b>PROTOZOARIOS</b>		
<u><i>Entamoeba histolytica</i></u>	Ameba	Ciego, colon
<u><i>Giardia lamblia</i></u>	Flagelado	Intestino delgado
<i>Eimeria</i> sp.	Coccidia	Intestino
<u><i>Plasmodium malariae</i></u>	Malaria	Células rojas de la sangre, hígado
<i>Sarcocystis</i> sp.	Ninguno	Músculos
<b>TREMATODOS</b>		
<u><i>Fasciola hepática</i></u>	Gusano del hígado de la oveja	Hígado, conductos biliares
<u><i>Schistosoma japonicum</i></u>	Gusano de la sangre	Ramas de la vena porta
<u><i>Schistosoma mansoni</i></u>	Gusano de la sangre	Ramas de la vena porta
<b>CESTODOS</b>		
<u><i>Hymenolepis nana</i></u>	Tenia enana	Intestino delgado
<u><i>Hymenolepis diminuta</i></u>	Tenia de la rata	Intestino delgado
<u><i>Cysticercus hydatigena</i></u>	Larva de tenia	Hígado, área peritoneal

Tabla 13.3 Parásitos comunes de los animales de laboratorio y su hospedero normal.\*

Parásito (Nom. Cient.)	Nombre común	Localización en el hospedero
<b>PRIMATES DEL VIEJO MUNDO</b>		
		cont.
<u>Echinococcus granulosa</u>	Quiste de larva hydatigena	Organos internos
<b>NEMATODOS</b>		
<u>Trichuris trichura</u>	Gusano en forma de látigo	Ciego, colon
<u>Strongyloides simiae</u>	Gusano perforador	Intestino delgado
<u>Strongyloides stercoralis</u>	Gusano perforador	Intestino delgado
<u>Ascaris lumbricoides</u>	Gusano redondo	Intestino delgado
<u>Oesophagostomum stephanotomum</u>	Gusano nodular	Colon
<u>Nochtia nocti</u>	Trichostrongylid	Estómago
<u>Dipetalonema perstans</u>	Filaria	Cavidades serosas
<u>Dirofilaria immitis</u>	Filaria	Corazón, arterias pulmonares
<b>ACANTHOCEPHALA</b>		
<u>Prosthenorchis spirula</u>	Gusano con cabeza enredada	Ciego, colon
<b>ARTROPODOS</b>		
<u>Pneumonyssus simicola</u>	Acaro del pulmón	Pulmones
Sarcoptes sp.	Acaro escabador	Piel
<u>Pedicunus obtusus</u>	Piojo	Pelo.

**Tabla 13.3** Parásitos comunes de los animales de laboratorio y su hospedero normal.\*

Parásito (Nom.Cient.)	Nombre común	Localización en el hospedero
<b>PRIMATES DEL NUEVO MUNDO</b>		
<b>PROTOZOARIOS</b>		
<u>Entamoeba histolytica</u>	Ameba	Ciego, colon
<u>Giardia lamblia</u>	Flagelado	Intestino delgado
<u>Trichomonas hominis</u>	Flagelado	Ciego, colon
Eimeria sp.	Coccidia	Intestino
<u>Trypanosoma cruzi</u>	Trypanosoma	Sangre, tejidos
<u>Plasmodium brasilianum</u>	Malaria	Células rojas de la sangre, hígado
<u>Toxoplasma gondii</u>	Ninguno	Diseminado
<b>TREMATODOS</b>		
<u>Platynosomum marmoseti</u>	Gusano	Secreciones y ductos de la vejiga
<b>CESTODOS</b>		
<u>Hymenolepis cebidarum</u>	tenia	Intestino
<b>NEMATODOS</b>		
<u>Trichuris trichiura</u>	Gusano en forma de látigo	Ciego, colon
<u>Capillaria hepática</u>	Gusano capillaria	Hígado
<u>Strongyloides stercoralis</u>	Gusano perforador	Intestino delgado
<u>Ascaris lumbricoides</u>	Gusano redondo	Intestino delgado
<u>Necator americanus</u>	Gusano ganchudo	Intestino delgado.



**Tabla 13.3** Parásitos comunes de los animales de laboratorio y su hospedero normal.\*

Parásito (Nom.Cient.)	Nombre común	Localización en el hospedero
<b>PRIMATES DEL NUEVO MUNDO Cont.</b>		
<u>Filaroides barretoí</u>	Gusano del pulmón	Pulmones
Capillispura sp.	Spirurid	Estómago
<u>Dipetalonema gracile</u>	Filaria	Cavidad peritoneal
<b>ACANTHOCEPHALA</b>		
<u>Moniliformis moniliformis</u>	Gusanos con cabeza enredada	Ciego, colon
<b>ARTROPODOS</b>		
Demodex sp.	Acaro demodex	Folículo piloso
<u>Pneumonyssus stammeri</u>	Acaro	Pulmones
Pediculus sp.	Piojo	Pelo

\* Virtualmente todas las especies de animales de laboratorio pueden ser parasitados por organismos de cinco categorías de parásitos comunes protozoarios, tremátodos, céstodos, nemátodos y artrópodos. Algunos de estos parásitos pueden infestar algunas especies de animales de laboratorio.

**Flagelados:** Estos organismos tienen uno o más flagelos, la agitación de los cuales ocasiona el movimiento. Cada especie tiene un número característico de flagelos y una localización particular en el exterior de la membrana citoplasmática. La mayoría de los parásitos flagelados se encuentran en el tracto gastrointestinal del hospedador, donde se reproducen asexualmente por fisión binaria. Son relativamente pocos los flagelados patógenos. *Hexamita*, *Trichomonas* y *Giardia* son los únicos géneros que contienen especies que se sabe son patógenos a los animales de laboratorio. Ellos pueden o no ocasionar diarreas, pero no interfieren con la absorción de nutrientes en el intestino. *Hexamita muris* causa serios problemas en el ratón. Las especies de *Giardia* se encuentran en perros, gatos y primates no humanos; *G. lamblia*, se encuentra en primates no humanos y puede transmitir enfermedades a humanos. El diagnóstico se realiza por exámen microscópico del excremento. La mejor forma de localizar e identificar estos organismos es por exámen en fresco del excremento.

Los tripanosomas comprenden un importante grupo de flagelados que se encuentran en la sangre y en la linfa. Son parásitos intracelulares obligados, por lo cual la transmisión exitosa de la infección requiere de un artrópodo como vector. La mayoría de los tripanosomas no son patógenicos. Incluso si los animales de laboratorio son infectados, éstos no pueden transmitir el parásito en la ausencia del vector apropiado. Los primates del Nuevo Mundo comúnmente están infectados con tripanosomas. *Trypanosoma cruzi*, se encuentra en los primates no humanos y puede también infectar humanos ocasionando la enfermedad denominada del sueño, la cual es denominada así debido a su efecto sobre el sistema nervioso. El diagnóstico se puede realizar por exámenes microscópicos de frotis sanguíneos.

*Encephalitozoon cuniculi*, es un flagelado pequeño que infecta el cerebro, riñón, hígado, bazo y otros órganos principalmente de los conejos, pero también de roedores y otros tipos de animales de laboratorio. Este parásito también se encuentran en el exudado peritoneal de estos animales y es transmitido vía urinaria y oral, poco se conoce sobre sus métodos de multiplicación. Usualmente éste no produce enfermedad y únicamente se le reconoce en el examen histológico de los cortes de tejidos.

**Ciliata:** Estos organismos unicelulares, tienen cilios cortos con un patrón específico de arreglo sobre la superficie externa de la membrana. La agitación de estos cilios, da la propulsión al microorganismo. Los ciliados tienen trofozoitos y cistos. *Balantidium coli*, es el único parásito patógeno de importancia en este grupo. Este puede infectar a humanos, simios y algunos monos, puede ocasionar diarrea. Como en el caso de los flagelados el diagnóstico se realiza por examen microscópico del excremento.

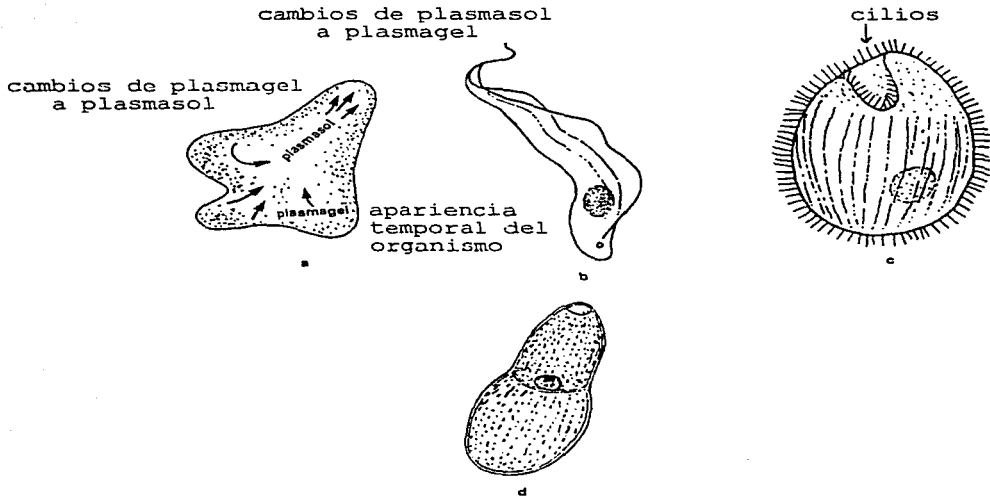
**Sporozoa:** Los organismos de esta clase son parásitos intracelulares, por lo cual forman esporas como un medio de

transmisión de un hospedador a otro. No tienen ninguna estructura especial para motilidad. Coccidia puede ser extremadamente patógena cuando se encuentra en la etapa de esporozoos. Estos invaden y destruyen las células intestinales del hospedador. La diarrea es el principal signo de coccidiosis y puede ocasionar alta mortalidad. La figura 13.4 muestra el ciclo de vida de toxoplasma, un esporozooc típico. La coccidia se reproduce asexualmente por fisión múltiple (esquizogonias), por un determinado número de ciclos. Entonces ellos se transforman en gametos machos y hembras denominados microgametocitos y macrogametocitos respectivamente. Estas unidades de gametos forman un cigoto, el cual sale del hospedador en el excremento. Fuera del hospedador el cigoto madura y continua hacia la esporulación (etapa de ocisto esporulado). Las esporas permanecen latentes hasta que un hospedador adecuado las ingiere. Tanto la reproducción sexual como la asexual ocurren en el hospedador. Otro esporozooc patógeno que afecta a los animales de laboratorio incluye el género *Cryptosporidia*, el cual se encuentra sobre la superficie de las células del tracto gastrointestinal de algunos roedores y *Eimeria stiedae*, el cual se encuentra en el hígado del conejo. La última pasa como ocisto a través de las vías biliares hacia el intestino.

*Toxoplasma gondii* es un parásito de prácticamente todos los mamíferos y aves. La infestación puede variar de aguda a inaparente. Toxoplasma se encuentra en muchas partes del cuerpo, tanto en forma libre como enquistada. La multiplicación sucede por fisión binaria o múltiple. La transmisión puede ocurrir por varios mecanismos incluyendo congénita (hacia la cría antes del nacimiento) o por ingestión.

Únicamente los gatos pueden adquirir la forma intestinal de la enfermedad. Los ocistos se encuentran en el excremento del gato y son capaces de causar una infección zoonótica en los humanos, en las mujeres embarazadas pueden ocasionar defectos congénitos en el producto.

Los parásitos que ocasionan malaria también son esporozoarios. Un ejemplo es *Plasmodium inui*. Los parásitos de la malaria se pueden encontrar en los primates (incluyendo los humanos), roedores, pájaros y reptiles. Todas las especies viven y reproducen en el hígado del hospedero, bazo, pulmón o riñón; cada tipo tiene su hábitat específico. Para pasar de un hospedero a otro hospedero, los organismos primero se liberan en la corriente sanguínea donde penetran a los glóbulos rojos o a los glóbulos blancos. La transmisión ocurre cuando el insecto apropiado (vector), tal como un mosquito se alimenta del hospedador, ingiriendo tanto parásitos machos como hembras. Mientras que los parásitos efectúan en el mosquito la reproducción asexual, la esporulación y la transformación infectiva en forma de esporozitos. Los insectos deben morder a un hospedador susceptible e infectarlo con los esporozitos. Los signos clínicos de una enfermedad activa incluyen anemia y fiebres recurrentes. El diagnóstico se realiza por un examen microscópico de frotis sanguíneos.



**Figura 13.3** Los cuatro tipos de protozoarios son: (a) Amiba (las flechas indican las proyecciones del citoplasma, por medio del cual estos organismos se mueven); (b) Flagelados (se representa aquí a un trypanosoma típico); (c) Ciliado (se representa aquí a la especie Balantidium); Esporozoa (se representa aquí a una gregarina).

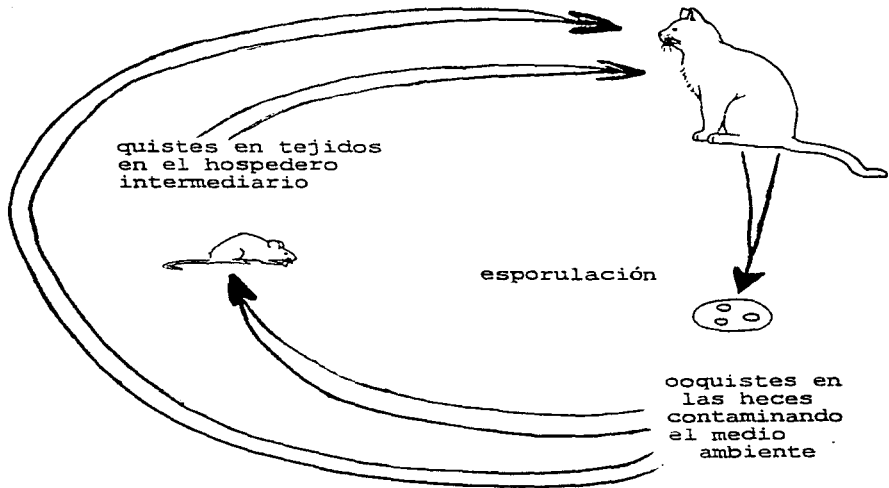


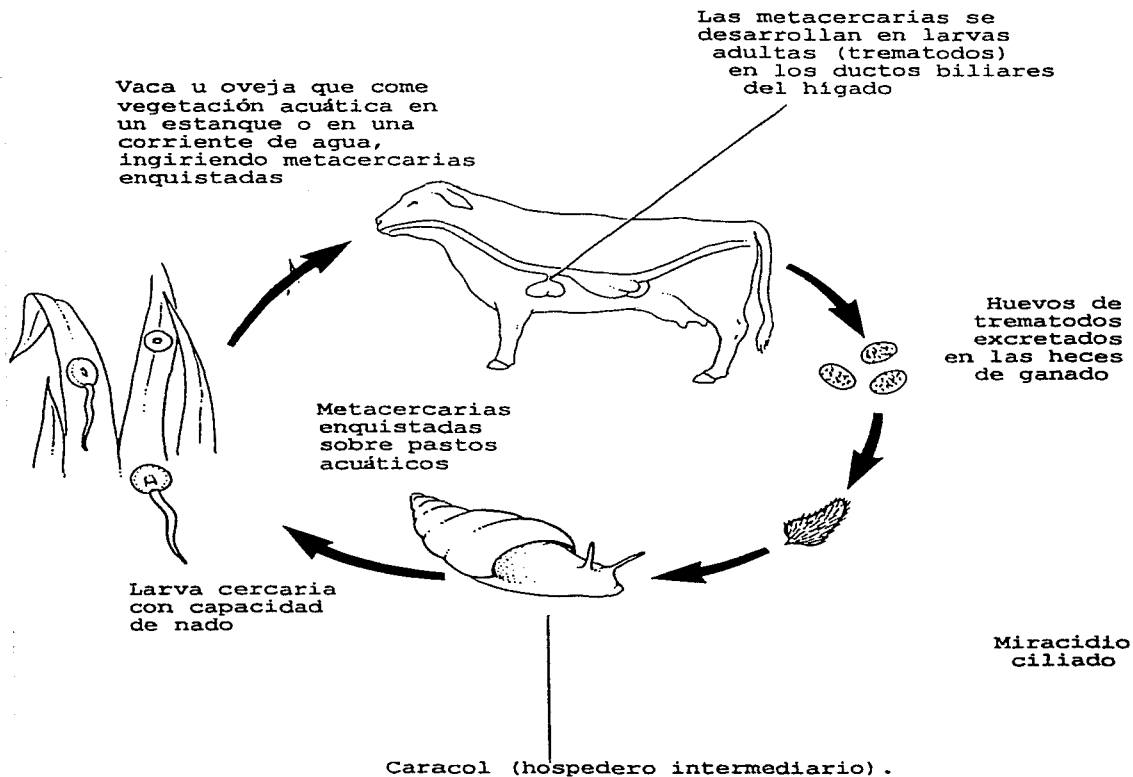
Figura 13.4 El ciclo de vida del toxoplasma, un esporozoo típico.

## Metazoa

Los parásitos metazoarios de los animales de laboratorio se encuentran divididos en cinco categorías principales: tremátodos, céstodos (tenias), nemátodos (gusanos redondos), acantocéfalos (gusanos con cabeza y cuerpo aplanado), artrópodos. La mayor parte de ellos son visibles al ojo desnudo.

**Tremátodos:** Los helmintos de la clase trematoda, son también conocidos como hojuelas. Estos parásitos son generalmente planos en forma dorsoventral y tienen un sistema digestivo y excretor simple. Ellos poseen sistemas de succión para adherirse a su hospedador. La mayoría de los individuos tienen tanto el sistema reproductor macho como el de la hembra. Las hojuelas tienen un complejo sistema de vida (Fig. 13.5). Las formas adultas se encuentran en varias partes del cuerpo del hospedador. Con la excepción de Schistosoma haematobium, los huevos de la fasciola pasan con las heces al agua. Las formas larvianas brotan y se entierran en ciertos tipos de caracoles acuáticos donde continúan su desarrollo. Después de madurar y multiplicarse sexualmente las larvas de fasciola emergen de los caracoles. Una vez libres penetran en el hospedador definitivo directamente o pueden enquistarse en la vegetación en espera de hospederos intermediarios, hasta que se consume o se alcance al hospedero definitivo. Con este ciclo de vida tan complejo los animales que nacen en el laboratorio no se llegan a infectar. Sin embargo, animales capturados en la vida silvestre y traídos al laboratorio o al bioterio pueden infectarse. *Paragonimus* es una especie típica de fasciola, donde se pueden encontrar a los adultos en el pulmón del hospedador. *Fasciola hepática* es la hojuela del hígado típica.

El diagnóstico de fasciola se hace por el hallazgo microscópico de los huevecillos en la orina o en el excremento, o por encontrar a la necropsia o en cortes de tejidos a los adultos. Los huevos tienen capas u opérculos, uno en un extremo y la mayoría contiene un embrión. Si el opérculo es difícil de observar bajo el microscopio, presionando con el cubreobjetos se ocasiona que el opérculo se abra. La mejor forma de observar los huevos es lavando el excremento y removiendo todos los dentritos gruesos que se encuentran, después se centrifugan y se examina el sedimento.

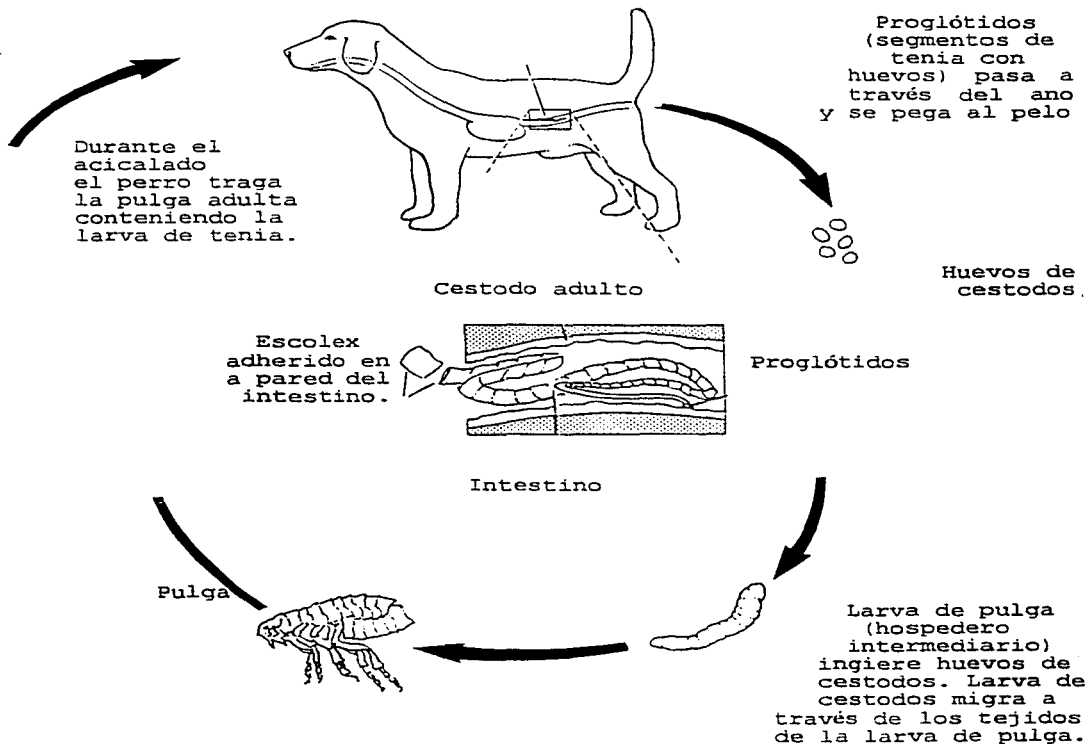


**Figura 13.5** El ciclo de vida de un trematodo típico. Estos organismos son liberados por el hospedero intermediario (caracol) para completar su ciclo de vida.

Céstodos: Los helmintos de la clase cestoda también son conocidos como gusanos planos. Los céstodos alargados, altamente segmentados y aplanados, tienen una longitud variable y pueden alcanzar hasta un metro, por lo que son fácilmente visibles. Carecen de un sistema digestivo, por lo que deben absorber los nutrientes directamente a través de las paredes de su cuerpo. Estos parásitos usualmente aparecen como cadenas de segmentos progresivamente maduros, los segmentos capaces de reproducirse son denominados proglótidos. Cada proglótido contiene tanto órganos masculinos como femeninos. Los adultos se encuentran en el intestino del hospedero definitivo, ellos se adhieren a las paredes intestinales con sus ganchos o ventosas que se localizan sobre el escolex, el cual es un órgano de adhesión. En la mayoría de los céstodos, los segmentos maduros que contienen huevos fertilizados ocasionalmente se abren y pasan al exterior a través del excremento. En otras especies, los huevos primero pasan a los poros uterinos en el tracto intestinal y después son llevados hacia el exterior en el excremento. La mayoría de los gusanos planos requieren un hospedador intermediario. Para Hymenolepis nana, los hospedadores definitivos pueden ser los roedores o los primates (incluyendo los humanos), y los hospederos intermediarios pueden ser tanto escarabajos de los granos, como gusanos de la carne (un tipo de larva de escarabajo). Para Dipylidium caninum, el hospedero definitivo son los perros y el hospedero intermediario pueden ser piojos o pulgas. Para la Taenia pisiformis, el hospedero definitivo son los gatos o perros y el hospedero intermediario son los conejos. El ciclo de vida de todos estos cestodos se completa cuando el hospedador definitivo consume al hospedador intermediario el cual contiene la larva del parásito (Fig. 13.6). Ocasionalmente, ciertas especies de gusanos planos infestan a un hospedador no natural y producen cistos llenos de líquido en el hígado del hospedador u otro órgano. En el caso de los bioterios, las ratas con este tipo de cistos (de Taenia pisiformis) han sido descritas frecuentemente. El diagnóstico de las formas adultas de estos parásitos se realiza por el examen fecal de los huevos, por observar los segmentos de las tenias adheridas al área del ano (los segmentos semejan pequeños granos de arroz), o por encontrar adultos o formas larvarias de los parásitos a la necropsia. El examen microscópico de los huevos revela una concha estriada y embriones que contienen ganchos.



La tenia madura a adulta en  
el intestino delgado  
(1-2 meses)



**Figura 13.6.** Ciclo de vida típico de un cestodo (tenia). Este parásito madura y se reproduce en el intestino del hospedero. Afuera del cuerpo del hospedero la larva de la tenia para completar su ciclo de vida cuenta con un hospedero intermediario el cual es la pulga.

Nemátodos: Existen muchas clases de nemátodos y ordenes de nemátodos, los cuales pertenecen a un Phylum muy grande denominado Nematoda. Estos gusanos que no son segmentados de apariencia cilíndrica en la cara, tienen un tracto digestivo y un sistema excretor. La mayoría de los nemátodos tienen sexos separados; esto es, pueden ser macho ó hembra. La característica del ciclo de vida de los nemátodos varía grandemente de especie a especie, pero en general siguen algo similar a lo descrito en la Figura 13.7.

. Los huevos pasan al exterior en el excremento y se desarrollan en embriones al madurar.

. El primer estado larvario se desarrolla seguido de una muda.

. El segundo estado larvario se desarrolla, seguido por una muda.

. El tercer estado larvario (usualmente inefectivo) se desarrolla, seguido por una muda.

. El cuarto estado larvario se desarrolla, seguido por una muda.

. Los adultos se desarrollan.

Los huevos de los nemátodos usualmente son lisos y transparentes. Algunos pueden estar embrionados. Ejemplos de la apariencia microscópica de algunos de los huevecillos se ilustran en la Figura 13.8. Algunas especies de nemátodos se conocen por su ciclo de migración larvaria, ó por su migración a través de hospedadores no naturales ó incompetentes en los cuales la maduración no ocurre. Larvas viscerales migrantes de *Toxocara canis*, un nematodo del perro, puede presentarse en humanos y puede ocasionar severas patologías.

Las especies de *Trichuris*, también conocidas como gusanos látigos, son un género de nemátodos que se caracterizan por un esófago formado por una serie de células en forma de rosca. Los cuerpos de la mayoría de los *Trichuris* son alargados y filamentosos en su porción anterior y gruesos y cortos en su porción caudal. Los huevos tienen un tapón polar a cada terminación, lo cual ayuda a su identificación microscópica. Los gusanos látigo se encuentran en la mayor parte de los animales de laboratorio. En su forma adulta habitan en el ciego o en el colon. *Capillaria hepática* vive en el hígado de los roedores, conejos, perros y primates no humanos. Los huevos se depositan en el tejido hepático y pueden ser expuestos al aire antes de que adquieran su fase infectante. Por lo tanto los animales que comen hígados infectados, pueden no estar infectados. Las hembras adultas de *Trichinella spiralis* no depositan huevos, en cambio depositan larvas en los tejidos intestinales del hospedador. Las larvas pasan por la corriente sanguínea hacia los músculos donde crecen, se enquistan y se convierten en fase infectante.

Los nemátodos del orden *Ascaridia* (ascaridios, o gusanos redondos), como *Toxocara canis*, pueden infectar perros ya sea a través de la ingestión de los huevos embrionados, o por larvas que

migran en una hembra gestante hacia el hígado del feto. La ingestión de huevos embrionados libera larvas, las cuales migran hacia los pulmones, donde son expulsadas a través de la tos o tragadas, regresando al intestino donde se convierten en adultos. Toxocara cati tiene un ciclo de vida similar, pero la infección prenatal no se presenta. Toxocaris leonina rara vez migra a través del hospedador, aparentemente logra todas sus necesidades en el intestino del hospedador. El diagnóstico de estos parásitos se realiza por el examen fecal o presencia de huevos embrionados, por el hallazgo de adultos en el vómito o en el excremento, o por encontrar adultos a la necropsia.

Los nemátodos del orden Oxyuridae (oxiuridos, o gusanos alargados) usualmente se encuentran en el ciego y en el colon de los primates no humanos o roedores. Frecuentemente son llamados gusanos delgados, porque la hembra tiene una larga y delgada cola. Su ciclo de vida es directo. En la mayor parte de las especies las hembras migran a través del hospedador hacia el ano, donde depositan sus huevos en la piel que lo rodea. Un pedazo de cinta adhesiva transparente colocada en la región perianal y observada bajo el microscopio, puede ser una ayuda simple para realizar el diagnóstico. Syphacia obvelata es un gusano delgado que infecta ratones y ratas. Las hembras de unas pocas especies, como Aspiculuris tetraptera, depositan sus huevos operculados directamente en el intestino de los ratones y ratas. Posteriormente los huevos pasan hacia el exterior a través del excremento.

Los nemátodos del orden Strongylidae característicamente tienen dos etapas de vida libre parasitaria como adultos. Los machos de strongyloides presentan una bolsa alrededor de su cloaca. La hembra de los strongyloides es partenogénica; esto es, sus huevos se pueden desarrollar sin la inseminación. Entonces éstos se transforman en nemátodos de vida libre, o desarrollan formas larvarias infectantes. Si una forma de vida libre después se transforma en infectante, el hospedador definitivo se convierte en infectado, ya que puede tener la tercera etapa (infectante) la cual penetra a través de la piel o de la boca. Las larvas pasan a los pulmones, en donde son expulsadas por la tos, tragadas y llegan al intestino donde maduran. El diagnóstico se realiza por el examen microscópico del excremento, e identificación de los huevos característicos.

La infección por strongyloides puede caracterizarse por anemia, diarrea, u otros signos. Los strongyloides se dividen en varias categorías. Uno es el gusano gancho, el cual tiene estructuras similares a dientes que se utilizan para masticar sobre la pared intestinal. Ellos se alimentan de la sangre del hospedador y tienen un ciclo de vida directo. Una larva infectante puede penetrar al hospedador a través de la piel o de la boca. La infección también puede ocurrir en forma prenatal a través de la leche de la madre. La especie de strongyloides más comúnmente vistas en perros y gatos es Ancylostoma caninum. Strongyloides del género Strongylus son similares a los gusanos de gancho, excepto que ellos no tienen estructuras similares a dientes; la larva gana la entrada

únicamente a través de la boca del hospedador y continúa su migración hacia los intestinos. Larvas de *Oesophagostomum apioostomum*, penetran la pared del colon y forman estructuras nodulares similares a tumores. Los nódulos pueden observarse a la necropsia sobre la serosa externa del colon de muchos monos del Viejo Mundo, ruminantes y cerdos. En los monos del Viejo Mundo, *Nochtia nochtii* se localiza en la porción pilórica del estómago y ocasiona crecimientos similares a tumores que pueden protruir hacia la cavidad del estómago.

El diagnóstico de strongyloides puede realizarse por el hallazgo de huevecillos o morulas con una delgada capa ya sea en el excremento, a la necropsia o en cortes de tejidos.

A pesar de que los nematodos del orden Spiruroidea (espiroides) son anatómicamente similares a los strongyloides, requieren hospederos intermediarios, usualmente el escarabajo del estiércol o la cucaracha. Ellos también participan en el desarrollo de lobed lips.

*Spirocerca lupi* ocasiona tumores nodulares en el esófago, estómago, aorta y otros órganos del perro encontradas en algunas partes de los Estados Unidos. El diagnóstico se realiza por examen microscópico del excremento, por el grosor de los huevos que contienen la larva es lo más indicado.

Filaroides (filarias) son alargados y delgados nematodos que tienen una sola boca. La hembra da nacimiento a las crías (microfilaria) más que depositar huevos. La succión de la sangre a través de los insectos, como los mosquitos, los cuales son vectores de la transmisión de estos parásitos. *Dirofilaria immitis* y *Dipetalonema reconditum*, son las dos especies más conocidas. *Dirofilaria immitis* es el gusano del corazón del perro, los adultos de estas especies llegan al corazón y arterias pulmonares. *Dipetalonema reconditum* es un nematodo subcutáneo que no se conoce que enfermedades causa o que problemas podría ocasionar su microfilaria. Debe ser diferenciada de los gusanos del corazón (Tabla 13.4).

**Tabla 13.4 Diferenciación de la microfilaria del Dipetalonema y Dirofilaria (Knotts Test).**

	<b>Dipetalonema</b>	<b>Dirofilaria</b>
Longitud	< 300 m	> 300 m
Ancho	< 5.6 m	6-7 m
Cabeza	Paralela, roma	Termina en punta
Cola	Recta	En gancho
Número de organismos en el sitio de observación	Usualmente bajas	Usualmente altas
Movimiento	Rápido, progresivo	Vigoroso, no progresivo
Dirección	Creciente ondulante	Recta

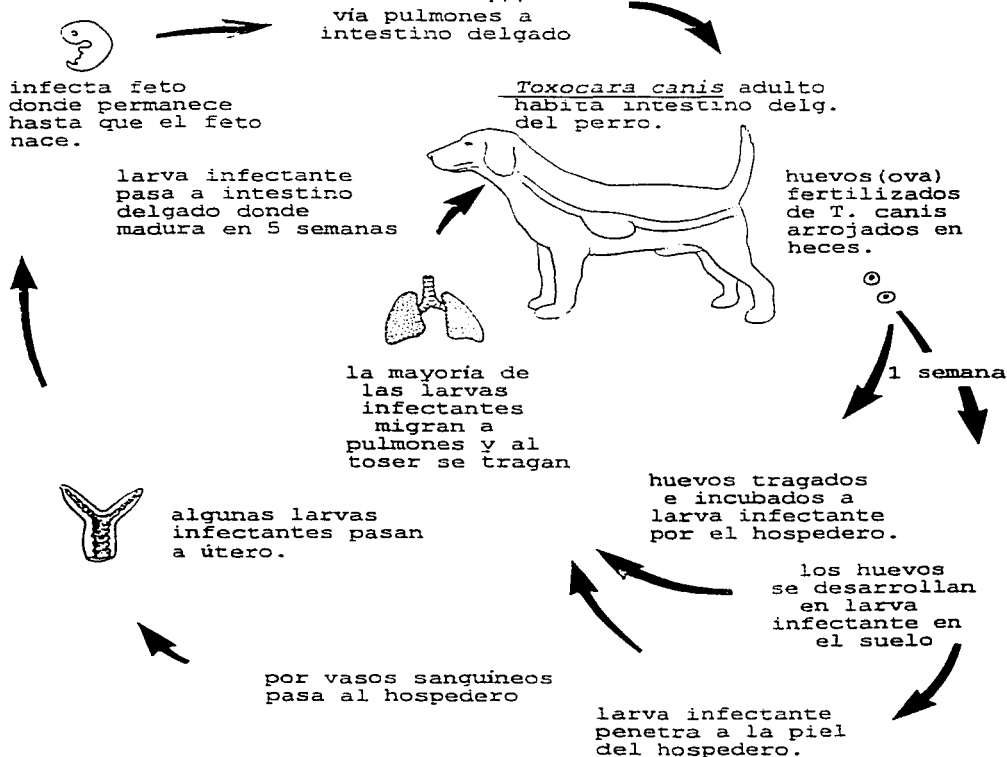
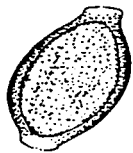
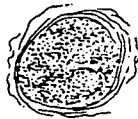


Figura 13.7 El ciclo de vida de un nematodo varía considerablemente de una especie a otra y muchos de ellos son complejos. Esta ilustración muestra el ciclo de vida de *Toxocara canis*. La larva infectante puede entrar al hospedador a través de la piel, o el hospedador puede infectarse por tragar huevos. La mayoría de las larvas infectantes encuentran su camino hacia el intestino del hospedador a través de los pulmones, donde maduran y se reproducen. Sin embargo, algunos pueden infectar el feto a través del útero.



Trichuris



Ascaris



Spirocerca



Syphacia



Aspicularis



Toxocara



Toxascaris

Uncinaria  
○  
Ancylostoma

Hymenolepis



Eimeria

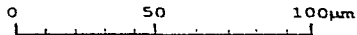


Figura 13.8 Varios tipos de huevos de nematodos que quizás se asocien con animales de laboratorio.

**Acanthocephalides:** Son parásitos del phylum Acanthocephala (gusano con cabeza enredada), son característicos por la ausencia de un tracto digestivo y de una cabeza retractil que está armada con un gancho. Tienen un ciclo de vida indirecto que requiere a un hospedador intermedio como la cucaracha o el escarabajo. Los acantocefalos Moniliformis moniliformis de la rata y Prosthenorchis elegans de los monos del Nuevo Mundo, ocasionalmente pueden ser encontrados en los animales de laboratorio. Estos pueden ser detectados al utilizar sedimentación fecal, técnicas que se utilizan para revisar la presencia de huevos embrionados que puedan tener tapones bipolares.

**Artrópoda:** Todos los parásitos externos de interés para la gente que trabaja con animales de laboratorio y unos pocos internos, pertenecen al phylum Arthropoda. Los primeros artrópodos clasificados de importancia en los animales de laboratorio son los arácnidos, los insectos y los pentastómidos.

Los arácnidos incluyen arañas, escorpiones, garrapatas y ácaros. Los ácaros son los que parasitan más comúnmente a los animales de laboratorio. En los arácnidos, la cabeza, tórax y abdomen, se encuentran fusionados y tienen cuatro pares de patas. Las antenas y las mandíbulas están ausentes y los órganos de la boca son representativos de una falsa cabeza (capitolio). El ciclo de vida consiste en huevo, larva, ninfa y etapa adulta. Las larvas difieren de las ninfas y de los adultos en que únicamente tienen tres pares de patas. Pneumonyssus simicola es un ácaro pulmonar de los macacos del Viejo Mundo. Produce pequeños nódulos en los tejidos, los cuales comúnmente se observan a la necropsia. Sarcoptes scabiei causa túneles en los perros, gatos, conejos, humanos y en muchos otros animales. En algunos estados, ésta enfermedad debe ser reportada hacia los oficiales locales de salud. Demodex sp. se encuentra en los folículos pilosos del perro y otros animales. Psoroptes cuniculi, (el ácaro de las orejas) se encuentra en la cara externa del canal de la oreja en los conejos.

El cuerpo de los insectos está dividido en tres partes: la cabeza (con ojos y antenas), el tórax (con alas y tres pares de patas) y el abdomen. Piojos, pulgas, moscas y mosquitos son insectos parasitarios. Sin embargo, únicamente las moscas y los piojos se discutirán aquí, dado que ellos pueden presentarse infectando animales en un bioterio.

Los piojos se encuentran aplastados dorsoventralmente y poseen antenas cortas. Existen dos tipos de piojos ampliamente definidos: Los piojos chupadores, los cuales tienen cabezas pequeñas y estrechas y órganos bucales adaptados para la succión. Y los piojos masticadores, los cuales tienen una cabeza amplia y órganos de la boca adaptados para morder y masticar. Todos carecen de alas y tienen patas que están modificadas para brincar. Los piojos tienen hospederos específicos y se transmiten por contacto directo. El ciclo completo de vida se desarrolla entre el pelo y las plumas del hospedador. Estos animales depositan sus huevos (ninfas) en los pelos o plumas. Las ninfas recién salidas del huevo se parecen a



los adultos pero pequeños; ellos realizan varias mudas. Polypilax serrata es un piojo típico del ratón. La infestación por piojos es llamada pediculosis.

Las pulgas son insectos sin alas con patas muy bien desarrolladas, que les permiten saltar a varias distancias. Las pulgas están comprimidas lateralmente, lo cual les ayuda a moverse a través del pelo del hospedador. Estos animales tienen espinas proyectadas en la porción posterior que evitan que se deslicen hacia atrás. Los adultos tienen órganos de la boca adaptados para succionar sangre. Su ciclo de vida consiste en cuatro etapas: huevo, larva, pupa y adulto. Las larvas se alimentan de desechos orgánicos. La pupa se envuelve en pequeños capullos, dentro de los cuales sufre metamorfosis para transformarse en pulgas adultas. Los adultos emergen de sus propios capullos de pupa como pulgas adultas. Los adultos emergen de sus capullos de tres a seis semanas después de que los huevos han sido depositados. Las pulgas son muy comunes en perros callejeros y gatos y son vectores de un gran número de enfermedades. Muchas especies de pulgas se alimentan de sangre y fluidos tisulares de cualquier fuente, pero las especies Ctenocephalides canis y C. felis usualmente son más específicas, y se encuentran principalmente en perros y gatos respectivamente.

#### CONTROL Y PREVENCIÓN DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS.

Con la gran variedad de antibióticos con que se dispone actualmente, el tratamiento efectivo de muchas enfermedades bacterianas es posible.

Las técnicas asépticas ayudan a prevenir infecciones quirúrgicas. Las vacunas ayudan a prevenir enfermedades virales por la estimulación del sistema inmune del hospedador, para desarrollar resistencia a enfermedades específicas.

El uso de drogas específicas y buenas prácticas de cuidado pueden ayudar a prevenir muchos tipos de enfermedades por protozoarios. La interrupción del ciclo de vida por agentes químicos, pueden evitar que muchos tipos de gusanos alcancen la etapa infectante o al hospedador definitivo. Esto puede requerir la desparasitación definitiva del hospedador para remover las etapas de los adultos, o puede requerir la eliminación de hospederos intermediarios. Los insecticidas pueden ser utilizados para remover ectoparásitos de los animales individualmente. Las razones para el uso en muchos bioterios de regaderas, lavado de manos, restricción de la propiedad de mascotas y el uso de uniformes, es obviamente para interrumpir los ciclos de vida de los parásitos. Las enfermedades fungales pueden prevenirse, evitando el uso indiscriminado de antibióticos y reduciendo las posibilidades de que los animales estén inmunosuprimidos.

Cuando una enfermedad infecciosa aparece en una colonia, muy poco puede hacerse para erradicarla, especialmente con roedores pequeños. Frecuentemente la única forma de erradicación de la enfermedad es despoblar la colonia e iniciar una nueva con animales sanos. Los animales de laboratorio que son grandes pueden ser aislados y tratados individualmente. Los animales nuevos no deben

ser llevados dentro del bioterio a los cuartos, cajas y equipo, por el contrario deben ser desinfectados antes. Las recomendaciones de higiene y desinfección deben ser seguidos diariamente.

La mejor forma de controlar una enfermedad en los animales de laboratorio es el tomar medidas preventivas adecuadas. Los animales nuevos recién llegados, deben ser cuarentenados hasta que el status de salud permita conocer con certeza su salud. La longitud del periodo de cuarentena depende de varios factores. Un periodo de cuarentena corto puede ser necesario para animales de los cuales se conocen las características con las que los proporciona el proveedor y a los cuales se les han realizado periódicamente un monitoreo, o exámenes que garanticen su estado. Sin embargo, cuando se compran animales de un proveedor nuevo, o un proveedor eventual, el periodo de cuarentena debe de extenderse. Es conveniente sacrificar algunos de los animales nuevos, para realizar necropsias y establecer su estado de salud.

Los bioterios deben evitar problemas de enfermedades, a través de adquirir animales libres de éstas. Las especies más comúnmente utilizadas en investigación están disponibles al menos en el estado de libres de patógenos, pero la adecuada limpieza y desinfección del bioterio y equipo, es crucial para mantener estos animales en ese estado.

## CAPITULO CATORCE

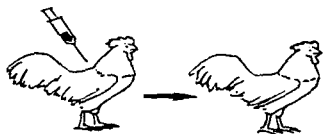
### INMUNOLOGIA

Los animales que resisten a ciertas enfermedades se dice que son inmunes a ellas. Desde la edad media se sabe que la gente que era lo suficientemente afortunada para sobrevivir a la infección de viruela, se convertía en inmune para futuras infecciones de esta enfermedad. A fines de 1700, un médico inglés, Edward Jenner, se percató de que la vacunación con viruela bovina también producía inmunidad contra la viruela humana.

El significado de las observaciones de Jenner sobre la vacuna bovina, no fue completamente comprendido por la comunidad científica hasta 1890, cuando Luis Pasteur estudió la resistencia de los pollos al cólera aviar. El cólera aviar, el cual no está relacionado con el cólera humano, es producido por una bacteria identificada como *Pasteurella multocida*. Pasteur aisló y reprodujo esta bacteria en cultivos puros, después inyectó a pollos con cultivos viejos que habían sido olvidados en el laboratorio por semanas. Los pollos se enfermaron pero se recuperaron pocos días después, cuando la bacteria ya había sido debilitada (esto es, su acción fue atenuada), entonces no fue la enfermedad letal para estos animales. Debido a que los pollos se recuperaron, Pasteur creyó que los cultivos viejos habían funcionado mal, así que los descartó y empezó el experimento otra vez pero con cultivos frescos. Debido a la escasez de financiamiento para investigación, Pasteur decidió reutilizar algunos de los pollos que ya había inyectado con cultivos viejos, él inyectó cultivos frescos en animales nuevos y también en los pollos que habían sido inyectados previamente. Los nuevos murieron, pero los que habían sido expuestos con anterioridad no fueron afectados (Fig.14.1).

Inyección con  
cultivos de  
Pasteurella  
atenuada

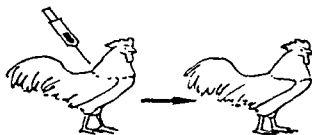
Inyección con  
cultivos  
virulentos  
de Pasteurella



Sano sin  
exposición  
previa.



Enfermedad  
ligera sin  
muerte.



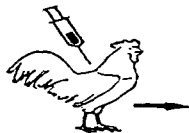
Enfermedad  
pero  
exposición  
previa.



No produce  
enfermedad  
no hay  
muerte.

(a)

Inyección con cultivos  
virulentos de Pasteurella



Sano sin exposición  
previa.



Muerte

(b)

**Figura 14.1** La respuesta inmune tal y como fue demostrada por Luis Pasteur en su estudio de resistencia de los pollos al cólera aviar. Los pollos sin exposición previa al cólera (Pasteurella multocida) fueron inoculados con Pasteurellas atenuadas (a) estos animales desarrollaron una enfermedad ligera pero no murieron. Estos pollos expuestos fueron reinoculados con cultivos virulentos pero no desarrollaron la enfermedad. Otro grupo de pollos que carecían de experiencia previa o de exposición previa a la enfermedad fueron inoculados con el mismo cultivo viral al que previamente habían sido expuestos los pollos que fueron inoculados (b) estos animales murieron.

Los trabajos de Jenner y Pasteur establecieron la teoría de que cuando los individuos son expuestos a microorganismos débiles o atenuados (aquellos que no producen enfermedad severa), esta exposición estimula activamente una respuesta inmune que protege a los individuos de sus subsecuentes exposiciones al mismo microorganismo o a microorganismos que producen enfermedades similares (virulencia). Este es el principio general de la vacunación.

### EL SISTEMA INMUNE

Un animal que no se encuentra inmunosuprimido, usualmente se defiende exitosamente en contra de los patógenos como bacterias, virus, parásitos y hongos. La primer línea de resistencia de los animales en el sistema inmune innato, protege de los daños que pudieran ocasionar los microorganismos patógenos. Cuando este sistema falla para proteger al animal, el sistema inmune adaptativo comienza a operar.

#### Sistema Inmune Innato

La cubierta protectora externa del cuerpo (piel), las células internas del cuerpo (fagocitos que reconocen y destruyen microorganismos patógenos), y algunos otros tipos de defensas naturales, comprenden el sistema inmune innato. Este sistema natural de defensa no depende de la activación o estimulación del sistema inmune adaptativo.

La especie, el género, la nutrición, la fatiga, la edad y la constitución genética, son algunos de los factores que ejercen influencia sobre el grado de resistencia de un individuo. Algunas especies presentan mucho mayor resistencia que otras a una enfermedad en particular. Por ejemplo, todos los mamíferos son susceptibles a la rabia (de la cual mueren relativamente rápido), pero las aves son relativamente resistentes a la rabia, debido a que tienen una temperatura corporal a la cual el virus rábico no puede sobrevivir. Los gatos no son susceptibles al Distemper canino y los humanos son resistentes al cólera porcino. Hay un sinnúmero de otros ejemplos de resistencia natural específica de especie.

La penetración y la infección de un animal, son evitadas por una gran variedad de propiedades físicas y químicas de los animales. Las células epiteliales evitan enfermedades al actuar como barrera mecánica contra una gran variedad de microorganismos patógenos. La piel tiene también un pH bajo (5.0-5.5), el cual en algunas especies produce una sustancia bactericida oleosa producida por las glándulas sebáceas.

Dentro del organismo, el moco actúa como un lubricante y también como una barrera mecánica; éste contiene enzimas y otras moléculas que ayudan a destruir los microorganismos. Las células ciliadas de la tráquea pueden atrapar partículas y moverlas hacia el exterior de las vías aéreas. La acidez estomacal natural y la secreción de enzimas de las glándulas salivales, la bilis de los conductos y la

vesícula biliar y el páncreas, también son sustancias que matan microorganismos patógenos.

Las células blancas fagocíticas, normalmente engolfan y destruyen microorganismos patógenos o materiales extraños. Ellas se encuentran localizadas a través de todo el organismo, lo cual les da una máxima exposición hacia partículas extrañas que invadan el organismo. Así mismo, numerosas moléculas solubles como el complemento y el interferón, son activos contra agentes infecciosos y contra un amplio espectro de patógenos (Tabla 14.1). En la mayoría de los casos esta resistencia innata evita la exposición de un animal apatógeno que pudieran desarrollar una infección.

**Tabla 14.1 Células y componentes del sistema inmune innato y adaptado.**

Componente	Sistema inmune innato (heredado).	Sistema inmune adaptado (depende de su exposición a los antígenos).
Componentes solubles	Lisosima, complemento, proteína de fase aguda, interferón.	Generación de anticuerpos por células B (sistema inmune Humoral).
Células	Fagocitos, células asesinas naturales.	Linfocitos T (células mediadoras).

### Sistema Inmune Adaptativo

Si el sistema inmune innato falla en destruir los patógenos, la siguiente línea de defensa que responde es el sistema inmune adaptativo (activo). El sistema adaptativo, proporciona defensas en contra de agentes infecciosos específicos, infestaciones parasitarias, y formaciones neoplásicas.

El sistema inmune adaptativo consiste en dos grandes tipos de reacción. Uno es la producción y secreción de anticuerpos solubles, que neutralizan y/o destruyen a los agentes infecciosos (sistema inmune humoral). El otro tipo de reacción general, es la reacción generada por la activación de linfocitos que destruyen agentes infecciosos, parásitos y otras células (sistema inmune mediado por células).

**Células de Defensa del Sistema Inmune Adaptativo:** Para operar, el sistema inmune adaptativo requiere de la presencia tanto de linfocitos B como linfocitos T. Estos linfocitos pueden diferenciarse por su localización, función y estructura. Los linfocitos B proporcionan la inmunidad mediada por anticuerpos. Ellos se originan de la bolsa de fabrico en las aves y de la médula ósea en los vertebrados superiores. Estas células se desarrollan en células plasmáticas que producen y secretan anticuerpos. Los linfocitos T se desarrollan en el timo y proporcionan la inmunidad mediada por células. Estas células también sirven como facilitadoras o reguladoras de las células linfocitos B (Tabla 14.1). Los linfocitos circulantes en la corriente sanguínea pasan al bazo, a los nódulos linfoides, al ducto torácico y regresan nuevamente a la corriente sanguínea.

**Procesamiento de Material Extraño (Antígeno) por el Sistema Inmune Adaptativo:** Para la mayoría de los animales, el mundo se divide en lo propio y lo no propio. Las moléculas de los organismos infecciosos, otros animales y sustancias químicas que no son las que corresponden a los componentes del animal, son lo no propio o antígenos. Únicamente los gemelos idénticos o animales consanguíneos, comparten exactamente los mismos antígenos. Los animales tienen una gran variedad de reacciones de defensa que los protegen en contra de lo no propio. Cada reacción de defensa en contra de los antígenos extraños consta de tres fases: reconocimiento, procesamiento y respuesta.

El reconocimiento categoriza a los estímulos como propios o no propios. Cuando el cuerpo reconoce los estímulos como no propios, una respuesta inmune activa le sigue. Esto requiere interacción entre dos tipos de moléculas: una molécula señal y una molécula receptora. La molécula señal lleva el antígeno, el cual puede ser una porción de una bacteria. La molécula receptora es capaz de recibir la información y puede encontrarse, por ejemplo, sobre los fagocitos de la célula hospedera del animal.

Procesamiento o el segundo paso en la reacción de defensa, es la transmisión de la señal recibida del receptor a otras moléculas y

células del animal. Esto es mediado por mensajeros químicos denominados citocinas.

En la respuesta o efector, en la fase del sistema de defensa adaptativo, el organismo responde con actividad inmune en contra de los antígenos específicos reconocidos como no propios. Por ejemplo, el toxoide tetánico (una forma de toxina tetánica que es atenuada por neutralización química), la vacunación estimula la producción de anticuerpos para la toxina de la bacteria *Clostridium tetani*. Cuando *C. tetani* infecta y crece en el cuerpo del hospedador sintetiza una toxina la cual es controlada si existen anticuerpos. Por lo tanto, la respuesta a la vacunación puede ser vista como un tipo de seguro de protección en contra de futuras exposiciones a la bacteria tetánica.

En la mayoría de las respuestas inmunes hacia un antígeno, la segunda respuesta para el mismo antígeno ocurre mucho más rápido que en la primera y también mucho más fuerte, como si el sistema pensara y recordara lo que hizo antes (Fig. 14.1). Esta reacción secundaria en el sistema inmune es llamada una respuesta anamnésica (del griego *anamnesis*, el cual significa recordando). Cuando un humano o un animal recibe una serie de vacunaciones, los refuerzos o segundas o terceras inyecciones estimulan esta memoria inmunológica.

Cuando un animal es expuesto por primera vez a un antígeno, este responde produciendo inmunidad humoral o celular. Exactamente esta respuesta ocurre dependiendo de la estructura del agente químico, o también si la sustancia viene de un organismo vivo o de un organismo muerto, de su concentración y de la ruta de inoculación. La respuesta a exposiciones secundarias siempre depende del estatus inmunitario del animal. La manifestación de la enfermedad y sus signos es generalmente evitada, si el animal ha desarrollado una efectiva inmunidad debido a exposiciones previas al organismo infeccioso, o por exposiciones previas a una vacuna compuesta de antígenos que son del organismo o similares al organismo problema. Esta es la base de los programas de vacunación usualmente conducidos por los distribuidores de animales de laboratorio y es una parte importante del trabajo que se realiza en un bioterio o en un programa de acondicionamiento para gatos y perros.

En la mayoría de los animales los principales órganos linfoides son el timo y la médula ósea. Los órganos secundarios o periféricos corresponden a nodos linfoides, el bazo, las amígdalas y el tejido linfoide asociado al intestino, como son las placas de Peyer.

#### COMPONENTES HUMORALES DEL SISTEMA INMUNE

Los científicos identificaron hace mucho tiempo que además de las células blancas de la sangre, las sustancias que se encuentran en la porción líquida de la sangre también forman parte importante del sistema inmune. Las sustancias humorales presentes corresponden a complementos circulantes, properdina, lisosima, interferón y los más importantes, anticuerpos. Las células B, o linfocitos B, los cuales son responsables de la respuesta humoral, sintetizan las



moléculas séricas denominadas anticuerpos. Estos anticuerpos se unen específicamente a sitios o antígenos de organismos infecciosos. En el suero también se pueden encontrar otros componentes protéicos como son la albumina y las globulinas (los anticuerpos pertenecen a este último grupo). Los anticuerpos, los cuales también son denominados inmunoglobulinas, se caracterizan por sus propiedades físicas y químicas. Se sabe más y se comprende más acerca de los anticuerpos, que de cualquier otra molécula involucrada en la respuesta inmune.

Los animales producen diferentes tipos o clases de anticuerpos, o inmunoglobulinas, por ejemplo, Ig A, Ig M, Ig G, Ig E e Ig D. Cada tipo es simétrico y está compuesto de polipéptidos y carbohidratos. La porción de la molécula de anticuerpo que reacciona con un antígeno específico es el sitio antigénico combinante. Todas las clases de anticuerpos ayudan a proteger a los animales neutralizando las toxinas y los virus, entonces hacen a las bacterias más susceptibles a los fagocitos. Con la ayuda del complemento, los anticuerpos lisan microbios y tejidos celulares.

Ig G es el tipo más abundante de anticuerpo presente en el suero de los mamíferos. Es el único tipo que es capaz de atravesar la barrera placentaria y proporcionar inmunidad al feto en desarrollo. En el perro, gato, cerdos y ruminantes, sin embargo, muy poca Ig G puede ser transmitida en el útero. Es principalmente transferida en el calostro (la primera leche) después del nacimiento. Ig G está asociada con la respuesta humoral secundaria.

El segundo tipo más abundante de anticuerpo es Ig M. Es la primera inmunoglobulina que produce el feto y también es la primera detectable en la respuesta inmune. Sin embargo, este anticuerpo no permanece durante mucho tiempo en el organismo y tampoco alcanza concentraciones altas.

El anticuerpo predominante en el sistema secretorio es Ig A. Este se encuentra en los fluidos de las membranas mucosas de los intestinos, de los pulmones y del tracto urogenital. Ig A también se encuentra en la bilis, lágrimas, saliva y leche (calostro). Ig A ayuda protegiendo las superficies del cuerpo de la invasión por bacterias y virus.

Ig E usualmente se presenta en una muy baja concentración. Esta asociada con reacciones de hipersensibilidad inmediata como puede ser la fiebre de heno, sensibilidades de la piel y alimentos, otro tipo de alergias y asma. Los niveles séricos de Ig E se incrementan durante una infección parasitaria y otras reacciones alérgicas. Las moléculas de Ig E se adhieren a células especializadas como las células cebadas y los basófilos. Estas células liberan mediadores químicos o sustancias mediadoras químicas, como la histamina, la cual produce inflamación y subsecuentemente produce daño tisular. Moderadas cantidades de Ig E basadas en reacciones, son benéficas pero desafortunadamente los animales frecuentemente sobrerresponden a Ig E produciendo alergias o hipersensibilidad a los antígenos en cuestión.

Al momento de redactar el presente escrito, la función de Ig D aún no se había descrito. Este tipo de inmunoglobulina está presente en algunas especies junto con Ig M como una inmunoglobulina de membrana sobre células B. Pueden participar en el reconocimiento y participación de activación de los linfocitos B.

Cuando los patógenos no son destruidos durante la respuesta inflamatoria inicial, o de la acción de anticuerpos existentes, la inmunidad mediada por células puede ser efectiva en contra de la inflamación.

Las células que participan en la inmunidad mediada por células, son las células denominadas T. Estas células de larga vida se originan en el timo. Cuando una célula T es estimulada por un antígeno, esta aumenta su tamaño y subsecuentemente se divide, produciendo células de la memoria y células asesinas.

La producción de linfocitos nuevos es denominada linfocitoblastogénesis. La tabulación o el conteo blastogénico es uno de los mecanismos para cerciorarse de la existencia de inmunidad mediada por células y determinar si existe enfermedad inmunodeficiente. Las células T no producen generalmente anticuerpos, por el contrario algunos tipos de células B pueden ser directamente citotóxicas para otros tipo celulares o pueden elaborar sustancias químicas (linfocinas) que activan macrófagos. Los macrófagos activados atacan y destruyen células infectadas con virus y células cancerosas, evitan la reproducción de los virus e inhiben la migración de células blancas de las áreas en las cuales se requieren.

El sistema inmune tiene efectos sobre los trasplantes de órganos. La histocompatibilidad (Histo significa tejido y compatibilidad significa la existencia de armonía) de un donador y receptor, es uno de los factores determinantes en el éxito de un trasplante. Entre mayor es la cercanía del donador con el receptor, mayor es la histocompatibilidad entre los dos y es más probable el éxito del trasplante de piel, hígado, riñón, o del tejido del corazón.

#### RESPUESTA INMUNE

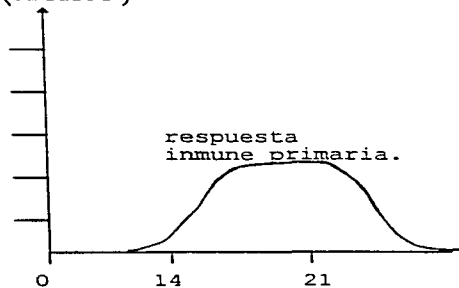
Los antígenos que entran a los tejidos es mucho más fácil que alcancen a los nódulos linfoides del sistema circulatorio. Una vez en el nódulo linfoide regional, los antígenos son atrapados y engolfados por los macrófagos. Esto estimula a los linfocitos B y T para proliferar y para desarrollar una reacción inmune. La mayoría de los antígenos que entran a la corriente sanguínea están atrapados por otras estructuras u órganos linfoides periféricos importantes, en el bazo ocurre una respuesta similar.

La mezcla de vacinas con adyuvantes aumenta la respuesta inmune, debido a la prolongación de la presencia de antígenos en el tejido. Esto permite al cuerpo responder por un largo periodo de tiempo, con lo cual se produce una respuesta inmune fuerte y se estimula también a las reacciones linfocíticas.

Después de que es iniciada la estimulación antigénica por una infección o por una vacunación, existe un periodo latente durante el cual no se pueden detectar anticuerpos específicos en el torrente sanguíneo: esto es denominado la fase LAG. Siguiendo la fase LAG, la producción de anticuerpos se eleva: esto es llamado la fase LOG. Posteriormente, la concentración de anticuerpos alcanza un pico, el cual es denominado fase de meseta y entonces cae después a niveles bajos, el cual es denominado la fase de declinación. El ciclo es conocido como la respuesta inmune primaria. Cada antígeno que se introduce produce una respuesta separada.

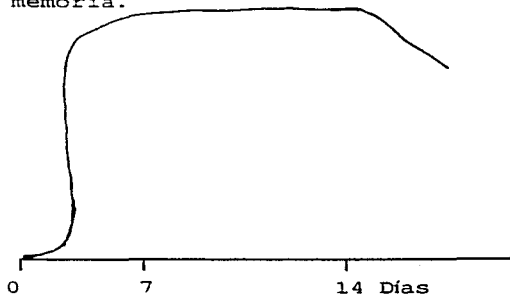
La reintroducción de antígenos iguales en el animal, resulta en una mayor y rápida respuesta, durante la cual la concentración de anticuerpos en el suero se eleva y persiste durante largo tiempo después de la respuesta primaria, esta es la respuesta secundaria o respuesta anamnésica. La concentración de anticuerpos usualmente alcanza su pico dos o tres semanas después de que haya ocurrido el contacto primario o la respuesta secundaria. Usualmente la concentración declina gradualmente durante las siguientes semanas o meses hasta un nivel que permanece más bajo o incluso indetectable. La aplicación de inyecciones adicionales del mismo antígeno ocasionan una fuerte respuesta anamnésica (Fig. 14.2).

Cantidad de anticuerpos en el suero (Titulos)



Primera dosis de antígeno.

Respuesta inmune secundaria, anamnésica o respuesta de memoria.



Segunda dosis de antígeno.

**Figura 14.2.** Una típica respuesta de anticuerpos hacia los antígenos. Después de la elevación inicial de antígenos existe un periodo Lag antes de que la respuesta de los anticuerpos pueda ser identificada en el suero. En cuestión de semanas a meses la concentración de anticuerpos en el suero declina, frecuentemente a niveles indetectables. Las inyecciones subsiguientes con el mismo antígeno producen altos y rápidos niveles y mucho más altos niveles de anticuerpos.

## TIPOS DE INMUNIZACION

Un animal puede recibir inmunidad para una enfermedad o para un antígeno a través de la inmunización pasiva, la cual se debe únicamente a la resistencia temporal. La inmunización pasiva es lograda por la transferencia de anticuerpos pre-formados de un animal inmune a un animal no inmune. Esto ocurre normalmente cuando un neonato ingiere calostro o recibe anticuerpos a través de la placenta. La inmunidad temporal puede también ser inducida proporcionando al animal anticuerpos preformados con una inyección de antisuero. Los anticuerpos adquiridos pasivamente se deterioran y degradan en el receptor durante varias semanas si no son utilizados por el animal o si no existe una reacción inmune subsecuente.

La inmunidad activa adquirida es la que el animal produce por su propio cuerpo en respuesta a la exposición a antígenos extraños. Este tipo de resistencia usualmente dura más que la inmunidad adquirida en forma pasiva y es el sistema de defensa más fuerte si los animales periódicamente son re-expuestos al inmunógeno. La inmunidad activa se desarrolla lentamente después de la vacunación o de la presentación de alguna enfermedad, ya sea inmunidad pasiva a través de desarrollo temporal inmediato después de la vacunación o exposición a la enfermedad. La inmunización activa asegura largos y fuertes periodos de protección más que con inmunidad pasiva.

Aunque las vacunas formadas por organismos vivos atenuados usualmente estimulan una mejor respuesta inmune, éstas pueden revertir a estados virulentos y transmitir la enfermedad. Brotes de rabia en mascotas, por ejemplo, se han asociado ocasionalmente con una pobre calidad de virus vacunales.

Las vacunas atenuadas son más estables en almacenamiento que las vacunas activas. A diferencia de las otras, éstas no producen enfermedad y carecen de organismos contaminantes.

### ENFERMEDADES DEL SISTEMA INMUNE

Existen tres grandes tipos de enfermedades inmunes: Enfermedades autoinmunes, enfermedades inmunodeficientes y complejos de enfermedad crónica.

Como su nombre lo indica en las enfermedades autoinmunes la principal falla es que el sistema inmune no se reconoce a sí mismo. La inmunodeficiencia es una enfermedad en uno o más de los componentes del complejo mayor de histocompatibilidad y la enfermedad compleja crónica inmune es por el depósito de anticuerpos y antígenos en los tejidos.

#### Enfermedades Autoinmunes.

Entre los tres tipos de reacciones de defensa (reconocimiento, procesamiento y respuesta), el reconocimiento no siempre ocurre como se describe en la literatura sobre la respuesta inmune. Un organismo puede por error reconocer lo propio como impropio. Esta clase de error es una falla en el sistema inmune de los animales, que correctamente se categoriza como un estímulo para propósitos de auto defensa.

Normalmente cuando se falla al reconocer lo propio, el cuerpo empieza a sintetizar defensas inmunológicas en contra de sí mismo. Esto es denominado enfermedad autoinmune. Las enfermedades autoinmunes ocurren en varias especies, incluyendo a los humanos.

En las enfermedades autoinmunes, una respuesta inmune individual para atacar los tejidos propios, frecuentemente produce daño al tejido de uno o más órganos. La anemia hemolítica autoinmune, por ejemplo, es un estado hemolítico en el cual los anticuerpos reaccionan con las propias células rojas de la sangre del animal. Los fagocitos rápidamente devoran células cubiertas con anticuerpos, o estas células cubiertas con anticuerpos pueden combinarse con las proteínas del complemento y entonces producirse su lisis. La pérdida de células sanguíneas rojas por medio de estos dos mecanismos ocasiona una severa anemia.

#### **Enfermedades Inmunodeficientes**

Las enfermedades inmunodeficientes reflejan una anomalía de uno o más componentes del complejo de inmunidad. Estas enfermedades son clasificadas como primarias o secundarias.

Las enfermedades inmunodeficientes primarias, son un error innato del metabolismo o una enfermedad genética no hereditaria. Un ratón atímico desnudo es un ejemplo de enfermedad genética no hereditaria, él nació sin Timo y por lo tanto carece de linfocitos T, los cuales son sintetizados en este órgano. Existen también enfermedades hereditarias en las cuales una cierta clase de anticuerpos no son sintetizados o la célula mediadora no responde adecuadamente a su trabajo. La inmunodeficiencia primaria generalmente no es fácil de reconocer.

Las enfermedades inmunodeficientes secundarias son mucho más comunes que las inmunodeficientes primarias. Estas pueden ser adquiridas como consecuencia de diferentes condiciones, incluyendo enfermedades infecciosas, cáncer, envejecimiento, desnutrición y terapia con drogas, principalmente corticosteroides, drogas anticancerosas y ciertos tipos de antibióticos. El virus de la leucemia felina, el cual produce enfermedades linfoproliferativas, también ocasiona enfermedades inmunodeficientes. Gatos afectados, frecuentemente mueren de inmunodeficiencia antes de que les de cáncer. El virus del Sida en humanos también ocasiona un síndrome de inmunodeficiencia. La gente con Sida frecuentemente muere debido a la proliferación de una infección causada por un agente para el cual estamos rutinariamente expuestos todos.

#### **Enfermedad Compleja Inmune Crónica**

Algunas infecciones crónicas en los animales y humanos, producen una prolongada elevación de antígenos solubles en la corriente sanguínea. Estos antígenos son anticuerpos que han sido depositados en los tejidos, particularmente los riñones, con lo cual producen lesiones (glomerulonefritis por complejo inmune).

## CAPITULO QUINCE

### TECNICAS DE DIAGNOSTICO

El diagnóstico es la rama de la medicina que facilita la identificación de las enfermedades. Un laboratorio clínico completo, está formado de una variedad de áreas especializadas, en las cuales se realizan pruebas que proporcionan datos, para la comparación de los componentes normales del organismo, con componentes alterados de animales enfermos. Los datos que resultan de cada una de estas pruebas de diagnóstico especializadas, son recopiladas e interpretadas tomando en consideración la historia y signos clínicos de la enfermedad.

La evaluación combinada de todos los estudios y la observación de los signos de diagnóstico, hacen posible el realizar un diagnóstico final y un pronóstico realista. El diagnóstico y el pronóstico, permiten al veterinario recomendar o administrar el tratamiento apropiado.

Los diagnósticos no son únicamente utilizados para evaluar la enfermedad o causa de muerte, también son empleados extensivamente para monitorear el estado de salud de los animales normales. Los programas de aseguramiento de la calidad de los animales de laboratorio también involucran el uso de el diagnóstico. Por ejemplo, en algunos bioterios el personal monitorea dentro de su instalación y también a los proveedores de animales, en busca de problemas infecciosos. Estos son sangrados, sacrificados, se les realiza la necropsia y se evalúan grupos de animales, usando análisis de diagnóstico de los que se discuten en este capítulo. Estas evaluaciones usualmente son realizadas en animales maduros y cuando es posible en reproductores retirados, estos estudios también pueden realizarse en animales jóvenes. Los animales viejos frecuentemente tienen mayor oportunidad de reflejar ciertas enfermedades de la colonia, dado que han sido expuestos durante un largo tiempo, desde que eran animales jóvenes.

El resumen o reporte en forma de resúmenes, acumulando datos, indicándonos las lesiones observadas, anticuerpos detectados, organismos o parásitos aislados y cambios químicos en los tejidos, orina, o sangre, nos proporcionan un buen perfil del estado general de la colonia. El comprender estas evaluaciones y usos, permiten a los tecnólogos el trabajar con el veterinario y escoger el vendedor adecuado, así como establecer programas de medicina preventiva. Este conocimiento ayuda a asegurar que los investigadores cuenten con animales sanos. Una vez que el estado de enfermedad de los animales de laboratorio ha sido determinado, es responsabilidad del tecnólogo el observar que los técnicos del bioterio mantengan apropiadas técnicas de cuidado y buenos procedimientos de aislamiento.

#### PARASITOLOGIA

La parasitología estudia el aislamiento e identificación de los parásitos, de sus formas larvianas y sus puevecillos. Para evitar

infestaciones parasitarias en los animales de laboratorio, la parasitología debe estudiar muestras de todos los animales que llegan y realizarlas a intervalos específicos en los animales en estudio de longevidad.

La mayoría de los parásitos tienen características microscópicas y macroscópicas específicas. La identificación positiva facilita el establecimiento de un tratamiento para estos parásitos.

Usualmente los parásitos compiten con el hospedador por los alimentos. Ellos pueden ocasionar daños al hospedador produciendo sustancias tóxicas y predisposición al animal a una infección.

Los parásitos pueden ser clasificados por el medio ambiente en el cual viven; por ejemplo, si ellos se encuentran fuera del cuerpo del hospedador son denominados ectoparásitos y si viven dentro del cuerpo del hospedador, son denominados endoparásitos.

Los ectoparásitos ocasionan enfermedades debido a que chupan o muerden para obtener los líquidos corporales del hospedador. Estos parásitos también inyectan otros microorganismos productores de enfermedad en el cuerpo del hospedador.

La principal y más importante evaluación que se realiza en los animales sospechosos de tener ectoparásitos, es un examen visual. Algunos ectoparásitos como las moscas y las garrapatas sobre los perros, son claramente visibles. Mucho puede entenderse con la apariencia general del animal y de su conducta. Los signos de infestación incluyen rascado, pérdida de pelo, áreas de la piel dañadas y abiertas como pequeños volcanes o enrojecimiento de la piel.

Con excepción de los gusanos adultos del corazón, los cuales se encuentran en la mayoría de los casos en el ventrículo derecho del corazón del perro, los endoparásitos generalmente se encuentran en el tracto gastrointestinal de la mayoría de los animales. Usualmente estos parásitos viven en armonía con su hospedador, sin producir enfermedad. Las larvas de endoparásitos pueden vivir en el cuerpo fuera del tracto intestinal. Por ejemplo, se les puede identificar en la sangre y en las muestras fecales, así como en raspados de piel y pabellón auricular. Los gusanos redondos como los ascáridos y los gusanos ganchudos, normalmente tienen un ciclo migratorio que involucra el paso a través del intestino hacia el hígado, a través de los vasos sanguíneos y hacia los pulmones. En los pulmones maduran y después penetran a la tráquea. De la tráquea los animales tosen los gusanos adultos y los tragan, entonces se comienza el ciclo del parásito nuevamente (Fig 13.7).

#### **Detección de Endoparásitos**

La mayoría de los endoparásitos pueden ser detectados por exámenes en el excremento. La contaminación fecal del excremento por fuentes externas debe ser evitado asegurándose que las muestras se tomen directamente del recto. Si esto no es posible, el excremento puede ser obtenido del fondo de la caja de los animales. Las heces son colocadas en un contenedor limpio con una tapa que cierre perfectamente y enviadas a un laboratorio de diagnóstico.



Mientras se toman las muestras, las heces deben ser observadas para detectar la posible presencia de pequeñas partículas blancas similares a granos de arroz, estos pueden ser segmentos de gusanos planos (proglótidos), los cuales probablemente son los parásitos más comunes que pueden ser diagnosticados sin análisis de laboratorio. Los proglótidos son móviles y tienden a moverse hacia fuera de la masa del excremento antes de contraerse y dispersar sus huevecillos en el aire.

**Exámen en Fresco o Muestra Directa:** Para tomar una muestra directa, una pequeña cantidad de excremento es mezclada con una gota de solución salina sobre un portaobjetos y cubierta con un cubreobjetos. La muestra es examinada bajo el microscopio para observar la presencia de parásitos, este es el método más rápido para identificar endoparásitos pero es poco efectivo debido a que la muestra es muy pequeña. Es, sin embargo, el método primario para la identificación de protozoarios del tracto intestinal, en los cuales puede observarse su motilidad si el excremento es examinado en fresco.

**Flotación:** Para detectar endoparásitos por el método de flotación, se necesita una muestra mucho mayor de la utilizada para el examen directo. En un tubo de centrifuga, la muestra es mezclada con una solución de sulfato de zinc, nitrato de sodio, o solución supersaturada de sacarosa la cual tiene una gravedad específica de 1.2 a 1.8. La mezcla es centrifugada por dos a cinco minutos, o simplemente se le permite sedimentar en un tubo por 15 o 20 min. El siguiente paso es llenar el tubo hasta su borde con solución de flotación, entonces un cubreobjetos limpio se coloca sobre la porción superior del tubo para que toque el líquido. El cubreobjetos debe permanecer aquí por 15 a 30 minutos. Después es retirado el cubreobjetos y se coloca sobre una laminilla para microscopía. La laminilla debe ser examinada a un aumento de 100X buscando la presencia de huevecillos de parásitos y coccidias.

Para facilitar y simplificar el método de flotación existen Kits comerciales con los que se puede hacer el análisis fecal. Estos Kits usualmente contienen todo lo necesario para realizar la prueba. No se requiere la centrifugación por lo que solo se realiza la flotación. Requieren largos periodos de reposo como los que se describieron antes para la detección de los huevos.

**Sedimentación Fecal:** La flotación fecal no revela ciertos tipos de endoparásitos como las larvas de nematodos, huevos de trematodos o huevos de acantocéfalos. Para detectar estos parásitos, la sedimentación fecal es la que debe ser utilizada. Una de estas técnicas, conocida como la técnica de Baerman, es especialmente útil para detectar larvas de nematodos. Para realizar la prueba de la sedimentación fecal, una muestra se coloca sobre un trapo de algodón estirado y se sumerge en agua tibia. Este procedimiento se hace en un embudo, con un tapón en el fondo. Las larvas de nematodos incapaces de nadar en contra de la gravedad caen hasta el

fondo del embudo, donde pueden ser removidas fácilmente en un pequeño volumen de agua.

Los endoparásitos que no infestan el tracto intestinal no pueden ser detectados por examen fecal. Para detectar estos tipos de parásitos se debe de revisar orina, esputo o sangre. El esputo y la orina pueden ser examinados por una muestra directa o por flotación. Para examinar la sangre y detectar endoparásitos, se puede utilizar una pequeña muestra similar a la que es hecha para el conteo de células sanguíneas. Las técnicas de microcapilaridad también se pueden utilizar. Estas involucran el examen de orina, esputo o muestras sanguíneas en tubos capilares bajo un microscopio de disección, en estos casos se busca la presencia de microfilaria. Así mismo, el examen a la necropsia puede ser necesario para detectar algunos parásitos gastrointestinales como los gusanos planos o los protozoarios tomándose muestras directas del contenido intestinal.

#### **Detección de Ectoparásitos**

**Raspado de Piel y Secreciones:** Para identificar ectoparásitos se coloca una gota de aceite mineral alrededor de las lesiones sospechosas y se hace un raspado de piel o se colectan las secreciones de oídos o fosas nasales. Las muestras son mezcladas con una gota de hidróxido de potasio en la laminilla para aclarar el pelo y las células de la piel. La muestra aclarada es cubierta con un cubreobjetos y examinada con una lente de aumento o bajo un microscopio.

**Técnica de la Cinta de Celofán:** Una técnica muy útil para detectar ectoparásitos de animales pequeños, como es el caso de roedores, una vez que se ha sacrificado el animal se coloca sobre una pieza de papel a la cual se le han colocado cintas de celofán en los bordes con el adhesivo hacia arriba (cintas con adhesivos de los dos lados facilitan la técnica), conforme el cuerpo se enfría los ectoparásitos tienden a dejarlo (se requiere de un hospedador de sangre caliente) y al escapar son atrapados por la cinta. La cinta de celofán también es una técnica utilizada para detectar endoparásitos que depositen sus huevecillos en el área perianal.

En este caso la cinta se coloca en el área perianal y después se le deposita en un portaobjetos para ser observada bajo el microscopio.

#### **HEMATOLOGIA**

La hematología es el estudio de la producción, utilización y destrucción (tanto normal y anormal) de los componentes de la sangre. Las pruebas sanguíneas son unas de las técnicas de diagnóstico más útiles. El volumen sanguíneo es aproximadamente el 5% del peso del animal vivo. La producción de células rojas de la sangre (eritrocitos), plaquetas y la mayor parte de los glóbulos blancos (leucocitos) se realiza en la médula ósea, pero se producen algunos tipos de leucocitos en los nódulos linfoides y en el bazo.

Estudios preliminares de varios componentes de la sangre ayudan

a los clínicos a hacer un diagnóstico preliminar, el cual frecuentemente nos indica una necesidad para realizar pruebas más específicas que confirmen este diagnóstico.

#### Conteo Celular Completo

Un conteo celular completo (CCC) es una de las técnicas más útiles de análisis de estudio hematológico. Un CCC incluye: Tabulación del hematocrito o volumen del paquete de células rojas (VPC); del contenido de hemoglobina; del total de células blancas; del conteo diferencial de células sanguíneas; y del conteo de plaquetas. Sangre sin coagular es colocada con un anticoagulante para evitar su coagulación, con el objeto de realizar el CCC.

Estas pruebas son utilizadas para evaluar tanto el número como el tipo de células y comparar estos valores con los valores normales.

Pueden existir variaciones sustanciales en los datos del CCC entre animales de la misma especie debido a que estos valores están sujetos a la influencia de la edad, el ciclo estral y el estrés. Factores ambientales como la nutrición, el ciclo de la luz, la temperatura, la calidad del aire, son algunos de los otros factores que pueden influir sobre los valores de CCC.

La tabla 15.1 muestra los valores normales hematológicos para algunas de las especies de animales de laboratorio más comunes. Si el conteo celular de glóbulos rojos de un animal es bajo, el animal es diagnosticado como anémico. Si el conteo de neutrófilos es alto el animal puede tener una infección bacteriana aguda. Si el conteo de linfocitos es elevado, el animal puede tener una infección viral. Otros cambios como el tamaño de las células, contenido de hemoglobina y morfología celular se relacionan con otros tipos de enfermedades.

En la mayoría de los laboratorios pequeños, la prueba de CCC es realizada manualmente. En los laboratorios grandes, sin embargo, la mayor parte de las pruebas CCC son realizadas usando contadores celulares automáticos. En estos laboratorios únicamente el conteo diferencial celular se realiza en forma manual. Los contadores de células automáticos son muy útiles para contar grandes cantidades de partículas de aproximadamente el mismo tamaño. Estos pueden utilizarse por lo tanto para determinar conteos tanto de células rojas como conteo total de células blancas. Algunos contadores automáticos pueden ser utilizados también para calcular valores del hematocrito. El contador de células automático se basa en diferenciales de conductividad eléctrica; esto es, la conductividad eléctrica de las células es pobre comparada con la de la solución salina. La máquina contea entonces la interrupción de la corriente eléctrica que resulta cuando las células pasan a través de una abertura muy pequeña. La abertura del contenedor es ajustable para acomodarse a los diferentes tamaños celulares de los diferentes animales de laboratorio.

**Tabla 15.1** Valores normales para conteos celulares completos en las especies animales de laboratorio más comunes.\*

Animal	Hematocrito (%)	hemoglobina (g/dl)	Eritrocitos ( $10^6 / \mu\text{l}$ )	Leucocitos ( $10^3 / \mu\text{l}$ )
Ratón	41	14.8	7.7-12.5	6-10
Rata	46	15.6	7.2- 9.6	8-18
Hámster	49	17.0	7.0- 8.0	7-9
Cobayo	42	12.4	4.5- 7.0	8-12
Conejo	42	13.6	4.5- 7.0	7-10
Gato	40	12.0	6.5- 9.5	5-15
Ferreo	45	16.0	4.5- 8.0	9-15
Rhesus	42	12.2	4.6- 5.8	5-15

\*Los valores de hematocrito y hemoglobina mostrados en esta tabla son valores promedio y los glóbulos rojos y blancos se presentan en rangos. Es posible encontrar variaciones significativas de algunos animales. La edad también puede ocasionar desviaciones de los valores normales de un individuo.

### Conteo de Células Blancas

El conteo de las células blancas o leucocitos, es una tabulación del número total de células blancas en un volumen específico de sangre. Para realizar el conteo de glóbulos blancos, una dilución de reserva como es el sistema Unopette, es llenado con una mezcla de sangre y líquidos de dilución como se indica en la reserva de dilución. El líquido de dilución debe contener ácido acético para hemolizar (destruir) los eritrocitos. El contenedor o reservorio es invertido y se deja reposar por 10 minutos para permitir que todos los eritrocitos se hemolisen. Se coloca un cubreobjetos sobre un hemocitómetro limpio (cámara de conteo) y se llena la cámara colocando la solución de dilución en la porción terminal del hemocitómetro permitiendo que se llene este por capilaridad. Unos minutos después se debe permitir que las células sedimenten en el hemocitómetro. Se debe tener cuidado para evitar la evaporación de la solución, por lo que se pueden proporcionar datos erróneos. Bajo un microscopio con un objetivo de bajo aumento (10X) y utilizando una mínima cantidad de luz todas las células que se encuentren en los nueve cuadros grandes del hemocitómetro se cuentan (Fig. 15.1). El conteo total es multiplicado por 100 para obtener el número total de leucocitos en un milímetro cúbico de sangre. Un número elevado de leucocitos puede hacer un conteo difícil. Si este es el caso una segunda dilución debe realizarse antes de iniciar el conteo. Sin embargo, la dilución extra debe ser considerada para el cálculo total de las células; por ejemplo, si la segunda dilución es 2:1, el número total de células debe ser el doble del determinado por el número de células por milímetro cúbico.

El número de glóbulos blancos o leucocitos se puede elevar en infecciones agudas, neoplasias, intoxicaciones químicas, o enfermedades metabólicas, traumas, y necrosis tisular e incluso simplemente manejando a los gatos. Si el conteo es bajo esto generalmente ocurre en septicemias bacterianas e infecciones virales.

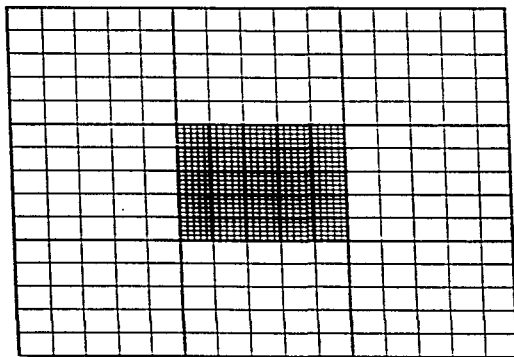


Figura 15.1 Una rejilla de hematocitómetro cuando se ve a la luz del microscopio. Este dispositivo se utiliza para el conteo de células sanguíneas.

### Conteo de Células Rojas o Eritrocitos

El conteo de eritrocitos o células rojas (CR), consiste en el número total de células rojas en un volumen específico de sangre. Un conteo de CR puede también realizarse con el sistema Unopette pero con uno hecho específicamente para conteo de células rojas. Para realizar esta prueba el hemocitómetro es llenado con una muestra y colocado sobre el microscopio. Utilizando un objetivo de bajo aumento se observa el área cuadrículada central del hemocitómetro. Con iluminación tenue se cuenta el número de células rojas en 5 de los 25 cuadros pequeños del área central. El número que resulta se multiplica por diez mil para obtener el número de eritrocitos por milímetro cúbico de sangre. Cuando se realiza el conteo de CR, todas las células son tabuladas ya sea que sean éstas CR ó CB (células blancas), sin tratar de distinguir una de otra. Normalmente el número de CB en las muestras de sangre es muy pequeño (1 en 750-1000) comparado con el número de CR presentes, así que el conteo de CB no tiene un efecto significativo sobre el conteo total de CR.

### Hemoglobina

La hemoglobina es la sustancia acarreadora de oxígeno de las células rojas. La cantidad de hemoglobina presente en las células rojas proporciona un indicador de la cantidad de oxigenación de los tejidos en el animal. La técnica de hematina ácida de Sahli, es un método manual común que se utiliza para la determinación de hemoglobina. Para realizar este procedimiento, una muestra de sangre es hemolisada en un hemoglobímetro. A través de un ocular el color de la sangre hemolisada es comparado con un color patrón en el instrumento. El grado de diferencia del color indica aproximadamente el nivel de hemoglobina.

La técnica más común de laboratorio para determinar la hemoglobina en todos los animales es el método de la cianometahemoglobina. Esta requiere del uso de un hemoglobímetro directo o un espectrofotómetro, cualquiera de los dos mide la concentración directamente.

### Hematocrito

El hematocrito se refiere al porcentaje del total del volumen sanguíneo ocupado por un paquete de células rojas. A esto se le llama el volumen del paquete celular (VPC). Para realizar una determinación de hematocrito, un tubo capilar es llenado con sangre anticoagulada, un extremo es sellado con plastilina y el tubo es centrifugado en una centrifuga microcapilar a 1500 revoluciones por minuto (rpm) por cinco minutos. Después el tubo capilar es colocado en un lector de tubos capilares el cual registra el VPC como un porcentaje del total de la muestra, lo cual es el hematocrito. Un hematocrito muy alto usualmente indica deshidratación; un hematocrito bajo usualmente indica anemia.

La inspección del plasma (líquido claro) y de la cubierta o capa intermedia (células blancas) dentro del tubo de microhematocrito también puede proporcionarnos información valiosa. El color del

plasma puede indicar ictericia (amarillo), hemoglobinemia e hiperlipemia. El examen de la cubierta celular es una forma muy rápida de revisar el conteo de leucocitos. Los leucocitos usualmente comprenden el 1% del total del volumen sanguíneo. En animales que tienen un alto conteo de CB, ésta lámina puede ser más gruesa de lo normal. En leucopenias ésta porción del hematocrito es una fuente conveniente para la preparación de diferentes conteos de células blancas. La técnica del hematocrito también puede ser utilizada para revisar la presencia de microfilarias como *Dirofilaria immitis* y otras especies.

#### Frotis Diferencial de Sangre

Para realizar un conteo diferencial de células blancas, se deben identificar 100 leucocitos y el número de cada tipo calculado como un porcentaje del total de CB contadas. El resultado puede ser utilizado para evaluar la salud de un animal a través de comparar los valores normales (Tabla 15.2). Muchas enfermedades pueden producir alteraciones en el porcentaje de diferentes tipos de leucocitos en la sangre de los animales. Las diferencias pueden servir como una guía para determinar la terapia apropiada.

**Tabla 15.2** Valores diferenciales normales en los animales de laboratorio.\*

Animal	Neut. (%)	Linfoc. (%)	Eosin. (%)	Monoc. (%)
Ratón	27	68	2	3
Rata	22	73	3	2
Hámster	29	67	2	2
Cobayo	43	49	4	4
Conejo	48	42	2	8
Gato	60	31	5	4
Perro	65	25	5	5
Rhesus	40	52	3	5
Baboon	51	43	4	2

\* Los valores mostrados en esta tabla son promedios. Las variaciones significativas entre varias razas o cepas pueden existir. La edad puede ser un factor de desviación normal de los valores en los animales.



Los frotis para el conteo diferencial deben realizarse con sangre fresca sin anticoagulante, esto se debe a que los anticoagulantes tienden a producir distorsión celular. Si un anticoagulante como el EDTA tiene que utilizarse, el frotis debe prepararse quince minutos máximo después de que se ha tomado la muestra de sangre.

Para preparar un frotis de sangre una laminilla nueva es sumergida en alcohol para asegurar su limpieza y después secada al aire. Un tubo capilar o un aplicador se utiliza para colocar una pequeña gota de sangre en uno de los extremos de la laminilla, pero primero la sangre debe ser bien mezclada. Si la laminilla está esmerilada, la gota debe ser colocada en la porción lisa cercana al área esmerilada. Una segunda laminilla es colocada en contra de la superficie de la primera, en un ángulo de 30° (Fig. 15.2) y deslizada suavemente sobre la gota de sangre.

Cuando la sangre se ha distribuido a lo largo de la porción terminal por acción capilar, la laminilla es deslizada a través de la superficie de la laminilla que lo soporta manteniendo un pulso constante. La sangre sigue este trayecto formando una fina lámina. El grosor de esta película debe crecer del punto de inicio al punto de término. El grosor de la película depende del tamaño de la gota, del ángulo de deslizamiento y de la velocidad con que fue hecho este deslizamiento. La película debe ser secada rápidamente ondeando la laminilla en el aire; el secado lento ocasiona la crenación (distorsión de las células). La película debe ser teñida en menos de una hora por algunas de las siguientes sustancias Wright's ó Giemsa, ambas son bien conocidas por su uso en hematología.

Una vez que la laminilla es teñida y secada puede ser examinada bajo el microscopio utilizando la lente con aceite de inmersión. Los diferentes tipos de células blancas son seis.

1. Neutrófilos. Son células blancas que tienen núcleo segmentado y gránulos citoplasmáticos que no se tiñen ni con el colorante ácido ni con el colorante básico. Estas células se producen en la médula ósea y usualmente comprenden de 45% a 75% del total de CB contadas. La elevación en la concentración de neutrófilos es usualmente asociada con infecciones bacterianas o destrucción tisular; niveles bajos son sintomáticos de infecciones virales o de etapas tempranas de enfermedad bacteriana.

2. Células en banda. Son neutrófilos inmaduros o sin segmentar. Usualmente comprenden no más del 1% al 3% del total de CB contadas. Debido a que las células son liberadas en el sistema circulatorio antes de su madurez, una elevada concentración de estas células es un signo importante de enfermedad.

3. Linfocitos. Son células redondas de superficie lisa, que se producen en los nodulos linfoides y comprenden el 25% al 40% del total de CB contadas. Una concentración elevada de linfocitos es sintomático de una infección aguda y de leucemia; la concentración

baja de estas células asociada con anemia aplástica, desórdenes tímicos, algunas infecciones virales o efecto de drogas.

4. Eosinófilos. Son ligeramente más grandes que los leucocitos, con gránulos rojos muy característicos en su citoplasma. Existen aproximadamente en un 2% a 5% del total de CB contadas. Una elevación de eosinófilos puede ser un indicador de una reacción alérgica o de la presencia de parásitos. Una concentración también elevada de eosinófilos se observa durante la gestación.

5. Monocitos. Los monocitos son grandes leucocitos mononucleados que usualmente representan del 3% al 5% del total de CB contadas. La elevación de la concentración de monocitos es usualmente asociado con una etapa de recuperación de una infección aguda o con algunas enfermedades provocadas por rickettsias o protozoarios.

6. Basófilos. Son leucocitos que tienen grandes gránulos azulosos. Normalmente comprenden cerca del 1% del total de CB contadas. Son células que ayudan en el inicio de la respuesta inflamatoria.

#### Índices de Células Sanguíneas Rojas

Los índices de células sanguíneas rojas son estándares cuantitativos que nos permiten juzgar la calidad de las CR y ayudan en el diagnóstico de las causas de una anemia en particular. Estos son calculados por el uso de la hemoglobina, hematocrito y valores CR. Los indicadores de las células rojas de la sangre son válidos únicamente si las pruebas que se realizan son sumamente exactas.

Existen tres tipos de indicadores de CR: El volumen corpuscular medio (VCM), la media de hemoglobina corpuscular (HCM) y la concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM). Estas son definidas y calculadas de la siguiente forma:

1. El volumen corpuscular medio (VCM) es el promedio del volumen de CR expresados en micrómetros cúbicos.

$$\text{VCM} = \frac{\text{Hematocrito (\%)}}{\text{CR (millones}/\mu\text{L)}} \times 10$$

CR (millones/ $\mu\text{L}$ )

2. La hemoglobina corpuscular media (HCM) es la masa de hemoglobina en CR individual promedio expresada en picogramos.

$$\text{HCM} = \frac{\text{Hemoglobina (g/dl)}}{\text{CR (millones}/\mu\text{L)}} \times 10$$

CR (millones/ $\mu\text{L}$ )

3. La concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) es la concentración promedio de hemoglobina por 100ml del paquete celular, expresado en porcentaje. CHCM se incrementa únicamente en la esferositosis (un indicador de enfermedad autoinmune). Valores abajo de 32% usualmente indican hipocremasia.

$$\text{CHCM} = \frac{\text{Hemoglobina (g/dl)}}{\text{Hematocrito (\%)}} \times 10$$

Hematocrito (%)

### Conteo Plaquetario

Las plaquetas (trombocitos) son redondas, ovales o de forma redondeada y tienen un diámetro de dos a cuatro micrómetros. Son la fuente de los factores de coagulación esenciales para la formación de tromboplastina y retracción del coágulo, los cuales facilitan la coagulación. Estas ayudan a mantener la integridad de los vasos sanguíneos a través de aglutinarse y sellar rupturas en las paredes de los vasos. Las plaquetas, las cuales se originan en la médula ósea normalmente almacenan una gran cantidad de aminas activas con potente acción vasoconstrictora como es la serotonina. En términos generales cuando el número de plaquetas cae de 100,000 a 50,000 por microlitro de sangre, el animal puede desarrollar un proceso hemorrágico. Las plaquetas son difíciles de contar debido a que se desintegran rápidamente y fácilmente, por lo que es difícil distinguirlas de los restos celulares. Las plaquetas tienden a adherirse al vidrio, así como a cuerpos extraños y unas a otras. Un sistema Unopette está disponible para el conteo de plaquetas. Las plaquetas pueden elevarse en número después de una cirugía u otros tipos de stress.

### SEROLOGIA

La serología es el estudio de la porción fluida de la sangre con respecto a la presencia o ausencia de anticuerpos. Si un animal ha sido expuesto a un antígeno (sustancia extraña), las células producen anticuerpos específicos que circulan en el suero del animal y reaccionan contra el antígeno. Existen muchas técnicas para la medición de la concentración de anticuerpos específicos contra una enfermedad, como es el caso de la hepatitis viral del ratón, el virus Sendai, u otras incluyendo bacterias.

Para determinar si un animal o una colonia ha sido expuesto a una enfermedad viral, las muestras de suero deben de obtenerse y probarse para la presencia de anticuerpos que reaccionan contra el agente específico del virus sospechoso. La presencia de tal anticuerpo indica que el animal o la colonia ha sido expuesta a este antígeno. Los animales pueden contener títulos (concentraciones) de anticuerpos circulantes para virus comunes por largos períodos después de que han sido expuestos. Son útiles para determinar la historia de la salud de los animales y de la colonia de origen.

La titulación de anticuerpos es un método útil para estimar la cantidad de anticuerpos presentes. Esta prueba se realiza por la dilución del suero, en una serie de tubos de ensayo en los cuales va decreciendo la concentración. La solución de cada tubo es después probada para su actividad contra un sistema de referencia. La reciprocidad matemática de la mayores diluciones da a una reacción positiva como es el título. Si, por ejemplo, una dilución de diez veces del suero del anticuerpo permanece reactivo contra el antígeno, entonces se dice que el suero tiene un título de 10.

Los títulos de anticuerpos son indicadores útiles previos a la exposición de un patógeno. La elevación de un título por ejemplo

indica una exposición reciente y una infección activa. Para determinar la exposición previa, las muestras de suero son tomadas en un momento inicial del examen, cuando la enfermedad apenas se esta apreciando. Entonces 10 a 14 días después varias muestras de suero son tomadas nuevamente. Si la segunda titulación es más alta que la primera, el diagnóstico presuntivo de infección se puede realizar. Para usar estas pruebas de diagnóstico, el diagnóstico debe primero ser circunscrito a unas cuantas enfermedades, dado que las pruebas de anticuerpo son muy específicas debido a la naturaleza precisa de la respuesta inmune humoral. Dado que no hay una prueba genérica de anticuerpos, la prueba exacta que se requiere debe ser específica.

El suero puede ser almacenado indefinidamente a temperaturas muy bajas de congelación de  $-50^{\circ}\text{C}$  a  $-70^{\circ}\text{C}$ . Si las muestras de suero son tomadas periódicamente de colonias y almacenadas, la exposición a un agente inusual o a una nueva enfermedad puede ser registrada hacia atrás en el tiempo, comparando estos diferentes bancos de muestras que se obtuvieron.

La concentración de anticuerpos en el suero o el plasma de un animal puede ser cuantificado utilizando pruebas serológicas. Existen tres grandes categorías de técnicas serológicas utilizadas en el diagnóstico clínico de las enfermedades: Pruebas primarias, pruebas secundarias y pruebas terciarias.

#### **Pruebas Primarias**

De las tres técnicas serológicas generales, las pruebas primarias son las más sensibles; esto es, que detectan ligeras cantidades de anticuerpos. Es la medición directa de la unión del antígeno al anticuerpo por la detección de la cantidad de complejo antígeno-anticuerpo que ha sido formado. El uso de radioisotopos, colorantes fluorescentes, o enzimas marcadas reactivas ayudan a identificar estos complejos. La medición de las cantidades de radiactividad, fluorescencia, o cambio de color en las muestras facilita su cuantificación por radioinmuno ensayo, inmunofluorescencia y ensayo inmunoenzimático respectivamente. Por ejemplo, en la técnica de inmunofluorescencia un colorante es adherido a una molécula de inmunoglobulina que marca la localización de una respuesta inmune. Después de la exposición a luz ultravioleta, el colorante se observa de un color verde amarillento a través de un microscopio de luz.

La prueba de ELISA (ensayo inmuno absorbente ligado a enzimas) utiliza enzimas como indicador. El sustrato de enzimas produce un color característico, el cual es medido en contra de un estándar para determinar la concentración del anticuerpo o antígeno.

#### **Pruebas Secundarias**

Estas pruebas también miden los resultados de la interacción antígeno anticuerpo. Estas son usualmente más fáciles de realizar pero son menos sensitivas que las pruebas primarias. Existen dos etapas para realizar las pruebas secundarias. Primero, ocurre la reacción antígeno-anticuerpo. Esto es seguido por la precipitación o

aglutinación de un gran complejo, o activación de la proteína del complemento del suero por el complejo antígeno-anticuerpo.

Para realizar la prueba de precipitación, una pequeña cantidad de suero inmune es agregado a una proteína reactiva en una solución salina. Esto ocasiona que las moléculas de proteína formen agregados en el suero que son lo suficientemente grandes como para producir una lámina turbia al reaccionar con el sustrato. Un ejemplo de esto es la técnica de inmunodifusión, en la cual la prueba de precipitación se realiza en agar. Existen depresiones circulares en el agar en las cuales el antígeno y el anticuerpo se colocan separadamente. El antígeno y el anticuerpo se difunden uno hacia el otro y forman líneas de precipitación donde se encuentran. El aglutinamiento o los grumos ocurren cuando los anticuerpos cruzan con grandes moléculas de antígeno. La Ig M es especialmente eficiente en la aglutinación.

La prueba de fijación de complemento detecta interacciones antígeno-anticuerpo denotados por la activación del complemento que ocurre únicamente en la presencia de un antígeno que interactúa con un anticuerpo específico. Para visualizar la activación del complemento se realiza además una prueba de hemólisis.

#### **Pruebas Terciarias**

Las pruebas terciarias miden el efecto protectorio del anticuerpo en presencia de un animal. No son únicamente para indicar la unión antígeno-anticuerpo, sino también sirven de indicador para mostrar la habilidad protectora de estos complejos. Así mismo, las pruebas terciarias miden la capacidad fagocítica y destructiva del sistema de fagocitos mononucleados.

Avances recientes en la tecnología han permitido la reproducción de anticuerpos monoclonales (AM) los cuales actúan directamente hacia un antígeno específico. Los AM son producidos debido a la inmunización del animal, como una rata, ratón, con un antígeno. Después los animales que demuestran una buena respuesta a los anticuerpos se les remueve el bazo y se realiza una suspensión con sus células. Posteriormente se producen in-vitro fusiones de linfocitos de los ratones inmunizados con una línea particular de células malignas de mieloma. La fusión ocurre después de que las células son incubadas en conjunto. La línea de células resultantes mantiene la longevidad característica de las células malignas del mieloma y tiene la especificidad para producir anticuerpos habilitada por los linfocitos. Entonces, las líneas de los hibridomas producen anticuerpos monoespecíficos homogéneos, los cuales pueden ser almacenados por las células en cultivo y cuantificados utilizando algunos de los tres tipos de ensayos de anticuerpos.

#### **MICROBIOLOGIA**

La microbiología es la ciencia que estudia el aislamiento e identificación de organismos o microbios como bacterias, hongos y virus. Estos microbios usualmente crecen (cultivados) y se aíslan

en medios especiales de nutrientes como el agar. Una vez que son cultivados, las únicas características físicas de estos microbios, como son tamaño, forma y reacción a las tinciones pueden ser utilizadas para identificarlos. Sus características bioquímicas como la sensibilidad a varios antibióticos o requerimientos nutricionales pueden también ser utilizados como medios de identificación.

La exactitud de algunos análisis microbiológicos depende principalmente de la calidad de la muestra enviada para el análisis. Por ejemplo, todas las muestras deben ser obtenidas para bacteriología a través de técnicas asépticas. La sangre, la orina o las muestras de líquido cerebroespinal y las muestras ambientales, como agua de bebida, deben ser colectadas asepticamente en envases estériles. Cultivos provenientes de órganos, heridas, piel, aberturas normales del cuerpo, u objetos inanimados, como cajas de animales, deben colectarse a través del contacto de un isopo estéril directamente del sitio que va a ser cultivado, sin que el isopo toque ninguna otra cosa. Los organismos que inadvertidamente son introducidos en un cultivo provenientes de una muestra ambiental no pueden ser distinguidos de los que están presentes inicialmente. La introducción de bacterias extrañas puede entonces confundir el diagnóstico e interpretación.

Después de recolectar las muestras microbiológicas con un asa o con un isopo, se debe colocar inmediatamente en un contenedor estéril, inoculando esto en un medio de transporte o colocando en un medio apropiado de nutrientes y enviándolo rápidamente al laboratorio clínico. A su arribo al laboratorio clínico, las muestras deben ser colocadas en platinas e incubarse a 37°C. Después de sembradas las placas son identificadas y colocadas en incubación por 24hrs. Son entonces examinadas por su crecimiento. Si no ocurre crecimiento, son reincubadas por 24hrs. nuevamente. Si el crecimiento esta presente después de 24 a 48 hrs., las características físicas de las colonias bacterianas son observadas y registradas. Las observaciones deben incluir el tamaño (en milímetros), forma (redonda, plana, oval), apariencia (húmeda, seca, delgada, mucóide) y sus requerimientos aeróbicos o anaeróbicos.

Después de que las características físicas se han registrado, una muestra representativa de la colonia es seleccionada para realizar una impronta sobre una laminilla y se tiñe. Las bacterias se dividen en dos grupos en base a su capacidad de reaccionar ante la técnica conocida como tinción de Gram. Los organismos Gram positivos retienen el colorante púrpura, y los Gram negativos retienen el colorante rojo.

Al observar las características de tinción y morfológicas (Fig. 13.1) de los organismos, la identificación preliminar de las bacterias puede realizarse. Esta identificación preliminar reduce el campo para la realización de las pruebas bioquímicas que son necesarias para confirmar la identificación.

Después de que el organismo ha estado creciendo por 24 a 48 horas, colonias representativas son inoculadas en un nuevo medio de cultivo, al cual se le agregan discos con antibióticos. Los cuales incubados por este método se observan después de 24 hrs. La sensibilidad del organismo a los diferentes antibióticos puede ser determinado por la presencia o ausencia de crecimiento inmediato alrededor del disco con antibióticos. La ausencia de crecimiento inmediato alrededor del disco indica que el organismo es sensible a un antibiótico en particular. Contrariamente, la presencia de crecimiento inmediatamente alrededor del disco indica que es resistente a este antibiótico.

El diagnóstico de las enfermedades fungales es muy similar al que se realiza con las bacterias, excepto que las pruebas químicas y los medios que se utilizan son diferentes. Notese además que el crecimiento de los hongos es mucho más lento que el de las bacterias, de ahí que se requiera más tiempo para realizar una prueba y producir resultados definitivos.

Las enfermedades virales son mucho más difíciles de diagnosticar que las bacterianas y los virus son más difíciles de cultivar. Dado que no existen medios de cultivo artificiales, estos deben crecer en tejidos o cultivos celulares, en huevos embrionados o en pequeños roedores. Muchos virus pueden ser identificados a través de técnicas serológicas para la detección de anticuerpos específicos en el suero de un animal infectado, o por las características y efectos que producen en un tejido vivo o células de cultivo. Algunos virus pueden ser visualizados por microscopía electrónica.

#### NECROPSIA

La necropsia es el examen del cuerpo de un animal cuando éste ha muerto (post mortem). En humanos, esto es denominado autopsia. Para realizar o conducir apropiadamente una necropsia es importante que el investigador comprenda los mecanismos de la enfermedad. La necropsia puede verificar la causa de muerte de un procedimiento experimental, puede ayudar también para determinar si un animal era normal al momento del experimento y puede proporcionar información sobre el estado de salud de la colonia. Para que la necropsia nos de información más haya de la causa de la muerte del animal, debe conducirse habilmente y de una manera organizada. Todos los hallazgos deben ser registrados exactamente y subsecuentemente interpretados de manera objetiva.

Antes de iniciar la necropsia, toda la información disponible debe ser cuidadosamente organizada para formar la historia del caso. La caja de la cual provienen los animales debe ser retirada e identificada para también ser examinada. Por ejemplo, ¿ Hay evidencias de diarrea o sangre? ¿El animal estaba comiendo y bebiendo?. La identificación del animal también debe ser registrada. Utilizando el número y registro del animal se deben revisar sus antecedentes. Se debe actuar como un detective que siempre trata de aprender detalles sobre el caso. Si el animal no va a ser sometido a la necropsia inmediatamente, el cadáver debe

ser refrigerado para evitar la descomposición. El cadaver nunca debe ser congelado debido a que los cristales de hielo que se forman dentro de las células, las rompen y las distorsionan.

Una clave para una buena necropsia es la sistematización a través de una consistente rutina bien pensada. Es conveniente realizar una lista del procedimiento a seguir, o al menos de todos los tejidos que se van a incluir para el estudio completo de la necropsia.

La necropsia inicia con una anotación de las características del animal, su apariencia y su peso corporal, posteriormente se inicia el estudio macroscópico. El estudio se realiza del frente hacia atrás sobre uno de los lados y de atrás hacia adelante del otro. Cuando se estudia la nariz, oídos, boca, dientes, se debe registrar si hay alimento en la boca del animal, las características de los dientes y alteraciones de crecimiento, entonces dirigiéndose hacia las orejas, patas, tronco, ano, genitales y finalmente la cola, se debe revisar buscando cicatrices, pérdida de pelo, heridas o cualquier otra decoloración. Es posible encontrar algunas descargas. ¿En que condiciones generales se encuentra el animal?, ¿Está el animal obeso o delgado?, ¿Tiene el pelo irsuto o normal?. El cadaver debe ser revisado cuidadosamente para determinar la presencia de ectoparásitos, tomando las muestras necesarias para realizar el diagnóstico de su presencia. El examen macroscópico debe completarse antes de iniciar cualquier incisión. El resto de la necropsia depende de los deseos e instrucciones de los investigadores o del patólogo. Siempre que sea posible se deben examinar y coleccionar órganos internos. En algunos proyectos, puede ser necesario que se tomen muestras inmediatamente de algunos tejidos, por lo que los pasos de rutina pueden en algún momento pasarse por alto. Aquello que no fue observado en el examen macroscópico, puede encontrarse posteriormente en el estudio histopatológico (examen microscópico de los tejidos) y puede hacerse el diagnóstico diferencial. Recuerde que fallar en la recolección del material puede darnos un diagnóstico patológico equivocado y por lo tanto conclusiones erróneas.

### HISTOPATOLOGIA

La histopatología es la evaluación microscópica de los tejidos buscando alteraciones producidas por la enfermedad. Para realizar las pruebas de histopatología (después de la evaluación macroscópica de los órganos a la necropsia), se deben tomar pequeñas muestras de órganos, las cuales se deben conservar y preparar para realizar cortes finos. Los cortes delgados de muestras representativas de tejidos de los principales órganos y de algunos tejidos que macroscópicamente no muestran apariencia normal deben colocarse en un medio conservador como formalina amortiguada al 10%. En una cantidad 10 veces mayor de conservador que de tejido. Los conservadores deben ser cambiados cada 24 hrs. Después de que los tejidos son debidamente conservados o fijados, éstos son cortados en pequeñas piezas y embebidos en parafina. Cortes muy finos de



parafina son realizados en el microtomo. Los cortes son montados en portaobjetos y teñidos. La tabla 15.3 enlista algunas de las técnicas más comunes y sus usos. Estas preparaciones se examinan microscópicamente por un patólogo, quien asocia características distintivas y únicas del tejido con varias enfermedades.

Tabla 15.3 Técnicas de histología comúnmente utilizadas.

TINCIÓN	PROPOSITO
Rojo congo	Amiloide
MacCallum-Goodpasture	Bacterias
Graham	Bacterias
Tricromica	Tejido conectivo
Rojo de alizarina	Calcio
Acido fosfotucstico hematoxilina (PTAH)	Fibrina
Tinción de plata methenamina de gomori (GMS)	Hongos
Acido periódico de Schiff (PAS)	Hongos
Fite Faraco (acido rápido)	Hongos
Ziehl Neelsen (acido rápido)	Hongos/actinomyces
Gridley	Hongos
Carmina (mucicarmina)	Glucógeno
Iodo	Glucógeno, amiloide
Rojo oleoso O	Lípidos
Sudan negro	Lípidos
Azul de toluidina	Gránulos de células cebadas
Azul de metileno nuevo	Reticulocitos
Maquiavello	Rickettsias
Tinción de Warthin (plata)	Espiroquetas
Brawn and Brenn	Granos tisulares

## UROANALISIS

El uroanálisis es el estudio de las características químicas y físicas de la orina. El examen de la orina es usualmente solicitado para el diagnóstico de una enfermedad que esta afectando al sistema excretor. También se requiere ocasionalmente para la ayuda del diagnóstico de ciertas enfermedades sistémicas. Alteraciones en la gravedad específica, volumen, color, composición química y observación microscópica del sedimento, reflejan enfermedad no únicamente en el riñón o en la vejiga, sino también de otros órganos que eliminan productos de desecho a través de la orina. Por ejemplo, altos niveles de bilirrubinas (un producto de la degradación de la sangre) en la orina pueden indicar disfunción hepática. Una elevada concentración de glucosa urinaria es usualmente asociada con diabetes mellitus.

Las muestras para el uroanálisis se colectan utilizando técnicas antisépticas siempre que sea posible, debido a que es posible que una muestra para estudio microbiológico sea necesaria. Las muestras de orina son relativamente fáciles de obtener en animales grandes, simplemente insertando un cateter en la uretra y en la vejiga urinaria y colectando la orina en un recipiente o en una jeringa. Una o dos gotas de orina pueden ser colectadas en los animales pequeños, como roedores, a través de un masaje en el área abdominal próxima a la vejiga urinaria. En caso de que se requieran cantidades mayores de orina de animales pequeños es necesario utilizar cajas metabólicas. Una muestra puede obtenerse de una caja metabólica, sin embargo ésta puede no ser estéril. Una vez que la muestra es colectada u obtenida debe ser examinada tan pronto como sea posible, dado que las técnicas de almacenamiento pueden alterar los resultados.

Para análisis ordinarios de rutina, deben realizarse las observaciones generales como el color, olor, turbidez, gravedad específica y pH de la muestra. Las determinaciones químicas deben incluir pruebas para identificar proteinuria, glucosuria, cetonuria, bilirrubinuria, hemoglobulinuria, urobilinogenuria y nitratos. También se debe identificar la presencia de células, depósitos, cristales, bacterias, levaduras, parásitos, espermatozoides y otros contaminantes que posiblemente puedan aparecer en el sedimento urinario.

Aunque existen otras técnicas disponibles, las determinaciones químicas son realizadas fácilmente utilizando una determinación múltiple por colorimetría. Los resultados deben leerse en el tiempo correcto o a intervalos y en un orden apropiado. Si la orina debe ser mantenida por algún tiempo prolongado antes del análisis, esta debe ser almacenada en un recipiente pequeño para ser llenado completamente y después refrigerado.

La gravedad específica de la orina indica el radio de disolución de sólidos con respecto del volumen total de la muestra. Refleja el grado relativo de concentración o dilución de la muestra e indica la concentración y habilidad de dilución del riñón. La gravedad

específica del agua es de 1.000, pero la gravedad específica de la orina varía de 1.005 a 1.030. La gravedad específica de la orina puede ser medida con un urinómetro o un refractómetro. Un urinómetro flota alto en la orina concentrada y bajo en orina diluida. Un refractómetro mide el número total de sólidos y da un valor de la gravedad específica comparable a los obtenidos por otros métodos.

La hematuria, hemoglobinuria y la mioglobinuria son comparables en que resultan de una prueba positiva de sangre en orina. Cada una puede, sin embargo, tener diferente significado clínico. Por esta razón cualquiera de estas pruebas positivas para sangre en la orina deben ser investigadas con más detalle. La ausencia de células rojas en la orina, sugiere la presencia de hemoglobinuria y mioglobinuria. La hematuria es el término utilizado para describir sangre en la orina, ocasionado por una enfermedad del tracto urinario. La hemoglobinuria es la excreción de hemoglobina libre en la orina de un tipo de hemolisis de las células rojas. La mioglobinuria es la excreción de mioglobina en la orina debido a un traumatismo muscular.

El examen microscópico de los sedimentos de orina proporciona mucha e invaluable información para detectar desórdenes del tracto urinario. Los sedimentos más frecuentemente encontrados en la orina son cristales de minerales, proteínas, células epiteliales, células rojas y células blancas. Una muestra obtenida temprano en la mañana es preferible para el examen de sedimento urinario, dado que tiende a ser más concentrado que la colectada durante el día. La muestra debe ser examinada tan pronto como sea posible debido al crecimiento bacteriano que puede acelerar la destrucción de las células y de los elementos figurados.

Las tinciones supravitales son un rápido y simple procedimiento que hace más fácil el examen del sedimento urinario. La orina debe ser centrifugada por cinco minutos de 1500 a 2000 revoluciones por minuto (rpm). El sobrenadante es eliminado y el sedimento teñido. Después el sedimento es mezclado con el colorante, una gota del sedimento urinario coloreado es colocado en un portaobjetos, cubierto con un cubreobjetos y se examina al microscopio.

#### QUIMICA SANGUINEA

El estudio de la química sanguínea o análisis clínico del suero, es el estudio de los cambios en la concentración de varias sustancias químicas de la sangre tales como enzimas, productos de desechos metabólicos y electrolitos. Las pruebas químicas específicas en el suero y plasma ayudan a determinar que órgano u órganos en particular han sufrido daño o son afectados por una enfermedad. Algunas enfermedades pueden ocasionar alteraciones características de los componentes bioquímicos normales de los animales. La tabla 13.4 muestra las pruebas químicas sanguíneas comunes de los órganos con los cuales pueden ser asociadas. La sangre que es manejada para separar el suero y el plasma debe manejarse con cuidado y entregarse con prontitud al laboratorio.

Los tipos de pruebas que se requieren, determinan el tipo de muestra y técnica de almacenamiento a utilizar. El plasma se obtiene de una muestra gentil de sangre mezclada con anticoagulante, la mezcla debe hacerse cuidadosamente para evitar el daño de las células. Después de mezclar, la muestra es centrifugada de 1000 a 1500 rpm por 10 a 15 minutos y después el plasma separado en la parte superior del tubo se transfiere a un recipiente limpio.

Cuando se requiere suero, la muestra se procesa en forma similar pero no se le agrega anticoagulante y se le deja a temperatura ambiente por 1 o 2 horas que coagule antes de ser centrifugado. La mayor diferencia entre plasma y suero es la del fibrinógeno, el cual ha sido removido del suero.

**Tabla 15.4 Pruebas Comunes de Química Sanguínea.**

Prueba	Organo primario
sangre urea nitrógeno	Riñón
Creatinina	Riñón
Aminotransferasa aspartato (AST) (anteriormente SGOT)	Hígado, músculo
Aminotransferasa alanina (ALT) (anteriormente SGPT)	Hígado
Fosfatasa alcalina	Hígado, hueso, Gl, riñón
Bilirrubina	Hígado
Glucosa	Páncreas
Fosfoquinasa creatinina (CPK)	Músculo
Deshidrogenasa láctica (LDH)	Hígado, corazón
Gamma glutariltransferasa (GGT)	Hígado, riñón, vesícula biliar
Lipasa	Páncreas
Amilasa	Páncreas

Tabla 15.4 Pruebas Comunes de Química Sanguínea (cont.).

## ELECTROLITOS

Sodio

Potasio

Cloro

Bióxido de carbono

Calcio

Magnesio

Fósforo

## RADIOLOGIA Y RADIACION

La gente generalmente asocia radiación con armas nucleares, energía nuclear y tratamiento del cáncer. Todos los mencionados son algún tipo de radiación y producen algunos efectos. Sin embargo, la radiación también puede asociarse con la cura y la salvación de la vida. Cada persona se expone diariamente a la radiación natural de la tierra, el sol, las estrellas y algún otro tipo de radiación. Todos los humanos tienen elementos radiactivos en minúsculas cantidades en su cuerpo (radioisótopos), los cuales tienen actividad mínima radiactiva. Ciertos tipos de radiación son emitidos por las rocas, ladrillos, alimento, aire y agua. Pequeñas cantidades de radiación son inocuas como las encontradas en algunas fuentes de luz comercial, en algunos relojes y en ciertos tipos de detectores de humo.

La radiología, la cual es la ciencia de la energía de la radiación y sustancias radiactivas, es importante en la aplicación de la medicina y salud humana así como animal, especialmente como una arma de diagnóstico y como un medio de tratamiento de ciertas enfermedades. La radiografía, la cual es una ciencia compleja que involucra el diagnóstico por imágenes a través de controlar la radiación, se desarrolló como una ciencia de la radiología.

En estudios que involucran radiactividad o materiales radiactivos y radiología de diagnóstico, hay un cierto número de términos especializados que se utilizan para describir varios aspectos de la ciencia de la radiología. Muchos de estos términos son importantes en la ciencia de los animales de laboratorio y se explican a continuación.

. Roentgen (R): Denominado así por el físico alemán Wilhelm K. Roentgen, quien descubrió los rayos X en 1895, el roentgen es la

unidad de medición cuantitativa que corresponde a la exposición a la radiación. La cantidad de radiación que una persona o animal absorbe en un momento, es medida en términos de rads (dosis de radiación absorbida). En la mayoría de los casos rads y roentgens son términos intercambiables.

. Rem (equivalente roentgen humano): El rem es una unidad, de la dosis que es equivalente a la cantidad de radiación ionizante (de un solo tipo), que produce el mismo efecto biológico que un R de rayos X ó rayos gamma en humanos. El factor de calidad (QF) de un tipo particular de radiación, está en función de varios parámetros incluyendo el tipo y la energía de radiación y el radio al cual la energía es depositada.

. Curie (Ci): Denominado así en memoria de Madame Marie Curie, un curie es la medición del número de emisiones radiactivas debida a la desintegración por una unidad de tiempo. Un curie equivale a  $3.7 \times 10^{10}$  desintegraciones por segundo.

. Vida Media: Cada isotopo individualmente (forma de un elemento radiactivo), decae a un radio específico. La cantidad de tiempo que transcurre cuando un isotopo decae hasta la mitad de su actividad inicial es conocida como vida media. Las medias de los radioisotopos varían de fracciones de segundo a millones de años.

. Radiografía: Una radiografía es una imagen producida sobre una superficie radiosensible o película para radiación u otra luz visible, especialmente por rayos X que pasan a través de un objeto.

. Contraste: Es la densidad relativa u oscuridad de una imagen cuando se compara con las imagenes que la rodean.

. Distancia focal de la película: La distancia medida desde la superficie de la película al punto focal del tubo de los rayos X, es la distancia focal de la película.

. Radioopaco: Esta es la calidad de un objeto o sujeto que absorbe o deflecta la mayor porción de un rayo X, produciendo una imagen blanca sobre una película.

. Técnica de gráficas: Esta es la evaluación calculada, del desempeño de una máquina de rayos X en particular bajo condiciones estandares de kilovoltaje (KV), la distancia focal de la película, miliamperaje y tiempo (mAs), pantalla y rejilla para producir una densidad deseada de las imagenes de la película para una variedad de partes del cuerpo.

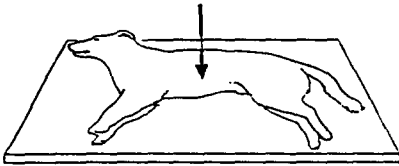
. Dorsoventral (DV): Es la posición en la cual el paciente es colocado para que el haz de rayos X toque primero sobre la superficie dorsal (espalda); la superficie ventral del paciente es la más próxima a la película.

. Ventrodorsal (VD): Es la posición en la cual el paciente es colocado para que el haz de rayos X toque primero sobre la superficie ventral del paciente; la espalda o superficie dorsal del paciente es la más próxima a la película.

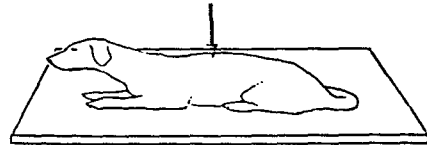
. Anteroposterior (AP): Se refiere a la radiografía de las extremidades en donde el haz de rayos X toca primero la porción anterior (craneal) de la extremidad; la porción o aspecto posterior (caudal) es la más próxima a la película.

. Posteroanterior (PA): Se refiere a la radiografía en la cual el haz de rayos X toca primero en la porción posterior (caudal) de la extremidad; la porción anterior (craneal) es la parte más próxima a la película (La figura 15.2 muestra todas las posiciones arriba mencionadas).

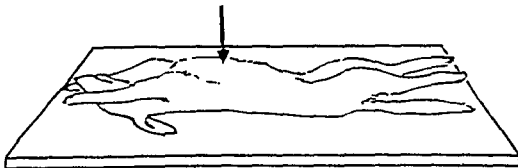




Recumbencia lateral  
(vista lateral izquierda)



Recumbencia esternal  
(vista dorso-ventral)



Recumbencia dorsal  
(vista ventro-dorsal)



Tangencial cráneo-caudal  
(vista del seno frontal)

Figura 15.2 Posiciones estandar y referencias anatómicas para la toma de radiografías de animales de laboratorio.

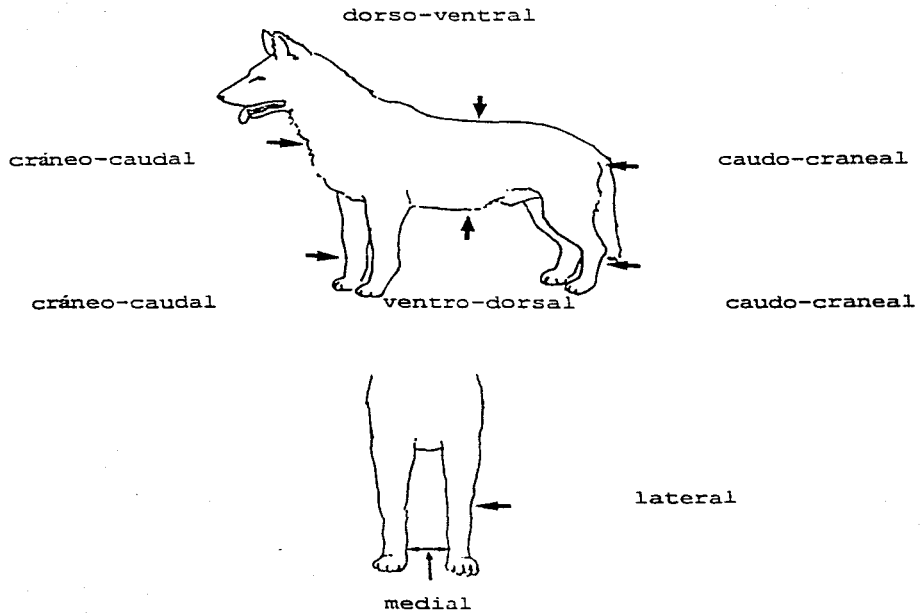


Figura 15.2 Posiciones estándar y referencias anatómicas para la toma de radiografías de animales de laboratorio. (cont.)

## Equipo

Las máquinas de rayos X son operadas por corriente eléctrica y contienen un panel de control con un transformador de alto voltaje, un tubo productor de rayos X y una mesa. Las máquinas usualmente tienen uno o más controles remotos para manejo de los apagadores. El panel de control tiene diales ajustables para regular el voltaje, amperaje, tiempo de exposición y distancia focal de la película.

El voltaje es la expresión en kilovoltios (KV), que indican la capacidad de penetración del haz. Incrementando el voltaje se incrementa la velocidad de los electrones, lo cual incrementa la penetración. El amperaje, está expresado en miliamperes (mA), es una medida de corriente de flujo la cual determina la cantidad de rayos X en el haz, en un periodo de tiempo. El tiempo de exposición, expresado matemáticamente en miliamperaje por segundo (mAs) es el producto de miliamperes por segundo. Esta indicado el total de la cantidad de exposición. La distancia focal de la película, es la distancia del tubo de rayos X desde su punto focal a la superficie de la película. El punto focal es el área más pequeña de un blanco, donde los electrones chocan y de ahí a donde los rayos X son emitidos. Los rayos X como la luz y las ondas de radio, son ondas electromagnéticas de energía que viajan a una velocidad tremenda. Los rayos X tienen la mayoría de las propiedades de la luz, pero también tienen pocas propiedades especiales que son de aplicación en medicina y radiología industrial, terapéutica e investigación. Por ejemplo, ellas tienen una muy corta longitud de onda la cual les permite penetrar a través de los materiales que absorben o reflejan la luz visible. Estos ocasionan que ciertas sustancias fluorezcan o emitan radiaciones de longitud de onda más larga como la luz ultravioleta. La exposición de películas fotográficas a los rayos X, produce un registro el cual puede hacerse al revelar la película. Finalmente, los rayos X ocasionan cambios que ocurren en las células somáticas, los genes y cromosomas.

El uso de un tubo de rayos X es uno de los más eficientes medios de generar rayos X. Un tubo de rayos X es un dispositivo electrónico que produce rayos X dirigiendo una corriente de electrones a una alta velocidad en contra de un metal blanco. Cuando estos electrones golpean los átomos del blanco ellos se desaceleran rápidamente, lo cual ocasiona que la mayoría de su energía se transforme en calor. Sin embargo, cerca de un 1% de la energía de esta desaceleración de electrones se transforma en rayos X.

Un tubo al vacío simple de rayos X, es un eficiente productor de rayos X. Como el voltaje varía sobre un amplio rango de valores, las propiedades de los rayos X cambian. Cuando el voltaje se coloca en un valor bajo los rayos X son blandos, tienen una longitud de onda y son fácilmente absorbidos. Con un voltaje alto los rayos X son duros y tienen una onda de longitud corta creando más energía y

mayor poder de penetración. La extensión de la absorción de los rayos X está determinada por la longitud de onda de los rayos X, la composición del objeto en el camino del haz de rayos, el grosor y la densidad del objeto.

Un tubo de rayos X está hecho de cristal y se puede romper o fracturar cuando se le maneja mal. Por lo tanto debe tenerse excesiva precaución cuando se trabaja cerca de la máquina. El casco de metal que rodea el tubo de rayos X es denominado contenedor del tubo, este sostiene y protege al tubo y forma un escudo que protege al operador de la radiación. El tubo alojado también contiene aislantes para proteger los cables de alto voltaje y contiene aceite para su enfriamiento. El tubo alojado también puede tener un ventilador de enfriamiento interconstruido.

Los rayos X, como la luz visible, radian de la superficie en línea recta pero en todas direcciones, a menos que estén bloqueados por un absorbente. El contenedor de metal sirve para este propósito, permitiendo únicamente que los rayos X útiles dejen la unidad a través del cristal o ventana de cristal también conocido como puerto, el cual es un cono de ajuste o colimador. El colimador no enfoca el haz, preferentemente lo que hace es bloquear los rayos X, entonces limita su escape del dispositivo y reduce el tamaño del campo de radiación. Esto limita la exposición del paciente, reduce la posible exposición del personal técnico y mejora la calidad de la radiografía. Asociado al colimador está una cinta de mediación, que es útil para determinar la distancia focal de la película. El colimador puede ser de forma cónica o cilíndrica y puede ser de plomo templado. Muchas máquinas de rayos X tienen un iluminador que trabaja en conjunto con el colimador, proporcionando una luz visible sobre el paciente, la cual puede ser ajustada al tamaño del campo que va a ser expuesto. Algunas máquinas de rayos X tienen unas líneas cruzadas, las cuales proporcionan una referencia visual del centro del haz de rayos X.

Debido a que el haz primario de rayos X está hecho de fotones de numerosos niveles de energía, se colocan filtros en el trayecto del haz para bloquear el paso de fotones de baja energía los cuales no contribuyen a la exposición de la película y podrían ser absorbidos por los pocos primeros centímetros de tejidos del paciente. Estos filtros entonces sirven como un dispositivo de protección para el paciente. Estos usualmente están hechos de aluminio para su uso en las unidades de diagnóstico de rayos X y son hechos en cobre cuando se utilizan en unidades para radiación de alta energía.

Una mesa de rayos X se coloca debajo del haz del tubo de rayos X, esta contiene el cassette o soporte de la película y proporciona un soporte físico para el paciente. Algunas mesas de rayos X pueden girar en forma vertical, lo cual permite al operador tomar radiografías del paciente de pie.

#### **Toma de una Radiografía**

El haz de rayos X es orientado hacia el cuerpo del paciente. Cuando éste pasa a través, interactúa con diferentes tejidos de

diferentes densidades. El haz que emerge del cuerpo (rayo de salida) corresponde al patrón de varias densidades de tejidos a través de los cuales el ha pasado; el patrón se produce sobre una película. Como el haz primario pasa a través del paciente, algunas de las radiaciones son absorbidas y algunas dispersadas en diferentes direcciones. La radiación dispersada forma una niebla en la película y reduce el contraste. Para mejorar la calidad de la imagen, la radiación dispersada debe ser interpretada. Para insertarla se utiliza un dispositivo denominado rejilla entre el paciente y la película, el cual remueve mucho de la radiación dispersa. La rejilla es especialmente útil en radiografía abdominal donde hay una gran cantidad de dispersión en los grandes volúmenes de tejido abdominal que hay ahí, por ejemplo, los huesos. Las rejillas se componen de arreglos alternados de 0.05mm de tiras de plomo y 0.33mm de ancho de tiras de aluminio radiolúcido.

Para proteger la película de rayos X del daño causado por la exposición a la luz, esta debe ser guardada en un contenedor o recipiente protector dentro del cuarto oscuro; y entonces ser transportada con seguridad hacia el cuarto de rayos X. El contenedor protege la película de la luz pero permite el paso del haz de rayos X. Un tipo de contenedor de película consiste de una envoltura de cartón, un lado es llenado con una hoja de plomo que evita que la película sea nublada por radiación dispersa sobre la mesa. Otro tipo de contenedor puede ser de plástico o cassette de aluminio con asa de plomo, dentro del cassette o caja se encuentra o está recubierto por una hoja de plomo.

Tres factores pueden afectar la producción de imagen sobre la película por los rayos X: El miliamperaje, el kilovoltaje y la distancia focal de la película. El miliamperaje está directamente relacionado con la intensidad de los rayos X (brillantes de la imagen). Este no afecta el contraste, el cual es la relativa calidad de la imagen con respecto una de otra. El kilovoltaje está directamente relacionado tanto con la penetración o poder de penetración como con la intensidad total del rayo, pero está inversamente relacionado al contraste. Incrementando el kilovoltaje se reduce el contraste. La distancia focal de la película del tubo hacia el objeto también puede afectar la intensidad de la imagen. Cuando la distancia se incrementa, la intensidad de los rayos X hacia el objeto decrece. Sin embargo esto no afecta el contraste de la imagen. La exposición es la intensidad de rayos X multiplicada por el tiempo de exposición. Cuando se hace una radiografía, el tiempo de exposición debe ser considerado, así como también el miliamperaje, kilovoltaje y la distancia. Estructuras muy densas (como el hueso) absorben más los rayos X, así que el tiempo de exposición debe incrementarse para obtener una imagen de calidad o de alta calidad.

La película de rayos X contiene una emulsión sensitiva que consiste de cristales microscópicos de bromuro de plata y de yoduro de plata suspendidos en una sustancia gelatinosa. Cuando la emulsión absorbe los rayos X o la luz, una alteración de estas

sustancias de plata sucede y ocasiona una imagen latente que debe ser registrada sobre la película. Esta imagen, sin embargo, no es visible por medios ordinarios; la película expuesta debe ser entonces revelada. Las transformaciones químicas de los compuestos de plata que suceden durante la revelación, el revelado transforma el compuesto de plata en plata metálica negra que queda suspendida en la gelatina, entonces es cuando es posible visualizar la imagen.

Sensibilidad de la película, la eficiencia con la cual una película responde a la exposición se conoce como velocidad de la película. Una película de alta velocidad requiere menos exposición que una película de baja velocidad para producir una buena radiografía.

La película de rayos X debe ser manejada cuidadosamente para evitar que esta se enrolle, se raye o se desgaste. La película debe ser separada lenta y cuidadosamente del cartón, de sostenedores para exposición o del cassette para evitar descargas electroestáticas, las cuales brillan sobre las radiografías como rayos o brazos de árbol de marcas negras. La película con papel intermedio debe ser manejada por los extremos donde el papel puede ser pinzado. La película que carece de papel intermedio debe ser manejada con el contenedor exclusivamente para evitar las impresiones de dedos o pliegue y evitar descargas electrostáticas.

Las películas de rayos X se deterioran con el tiempo; cada una de estas películas tiene impresa una fecha de expiración. Las películas viejas pero no fuera de uso deben utilizarse siempre primero. La humedad y el calor pueden también dañar la película y por lo tanto deben ser almacenadas en un ambiente seco y frío.

Las películas de rayos X expuestas deben identificarse adecuadamente. El nombre y la dirección del laboratorio o clínica, el año, el mes y el día en que fue tomada la radiografía; el tiempo y si una serie de radiografías fué tomada; la identificación del animal, nombre o número, sexo edad y raza; la orientación física del paciente; y la técnica radiográfica empleada que también debe ser incluida en la identificación. Las radiografías pueden ser identificadas colocando una cinta de plomo marcadora, números, o letras directamente sobre la cara de la película, donde no interfieran con la imagen que se registrará. Estos marcadores atenúan al haz de rayos X, permitiendo la exposición de la película claramente en el área donde descansa. Las cintas impregnadas con plomo pueden ser colocadas sobre el soporte y la información necesaria escrita con una pluma, esto desplaza el poder del plomo sobre la película. Sobre la película revelada la cinta mostrará una diferencia en densidad donde la escritura aparece. Otro dispositivo para identificar películas es el bloqueador de plomo, el cual es colocado sobre la película antes de su exposición. El bloqueador asegura que una determinada parte de la película permanecerá sin ser expuesta. Después de la exposición del paciente, el bloqueador es retirado y una tarjeta especial que tiene la información deseada escrita es colocada sobre la parte no expuesta de la película.

Iluminando con una luz especial esta parte de la película, se transfiere la información a la película. Todos los marcadores de identificación deben ser colocados consistentemente sobre un área en particular de la película. Esto ayuda a evitar movimientos del animal sobre el área de la película en la cual el marcador es colocado.

Otros tipos de marcadores pueden ser necesarios para identificar la extremidad derecha o izquierda, o el lado derecho o izquierdo del abdomen, tórax o la cabeza.

Marcadores mediales y laterales deben ser utilizados cuando se trabajan rayos X con animales grandes, para identificar las porciones de las extremidades que no tienen una prominencia natural marcada o carecen de ésta; por ejemplo, la sección media de un hueso largo o un dedo. Sin importar cual es el tipo de marcadores utilizados, la película debe ser identificada claramente para una futura referencia.

#### Trabajo del Cuarto Oscuro

En el cuarto oscuro, la limpieza y el orden deben ser los factores más importantes del laboratorio. El polvo y salpicaduras de sustancias químicas sobre las superficies deben removerse tan pronto como sean identificadas. Todos los suministros y equipo deben ser colocados en la posición más conveniente y mantenidos ahí para su fácil manejo. Debido a que la mayoría del trabajo se realiza en la obscuridad, el equipo disperso y mal acomodado reduce su utilidad en el cuarto oscuro e incrementa las posibilidades de cometer un error o dañar la película. Mientras que las máquinas de procesamiento automático remueven la mayor parte de los errores humanos que acompañan al procesamiento manual, aún así pueden existir algunos errores.

El procesamiento manual de las películas debe ser confinado a la porción húmeda del cuarto oscuro y el cargado de la película debe realizarse siempre en el lado seco. La solución reveladora fácilmente se oxida con la exposición al aire, así que debe ser mantenida cubierta para prolongar su tiempo de uso. La tina de revelado debe ser rellenada continuamente. La mayor parte de las técnicas manuales exigen 5 min. de tiempo de revelado.

La película es muy plegable cuando es tomada de la solución reveladora. Por lo tanto se deben eliminar burbujas de su superficie cuando se retira del revelador y debe ser ajitada suavemente. Si las burbujas están sobre la cara izquierda de la película, pueden ocasionar marcas blancas que aparecerán sobre ella. Para prevenir áreas brumosas, la película debe ser lavada por cerca de 15 seg. inmediatamente después de que es retirada del revelador. Entonces se la coloca en el fijador o hiposolución; esta solución puede contener un endurecedor. La película es dejada para su fijación por un total del doble del tiempo de lavado. Tiempo de aclaramiento es el tiempo que toma la película para perder su aspecto lechoso que tiene cuando fue colocada primero en el fijador. La película puede ser dejada en el fijador por hasta 10 min., los cuales usualmente son más del doble del tiempo de lavado

o aclaramiento, pero entonces requerirán un mayor tiempo de lavado. El tiempo normal de lavado es de 45 min. por cada 5 min. en el fijador. El tiempo de lavado también depende del flujo de agua y del número de otras películas que hayan sido lavadas en la misma agua. Las luces del cuarto oscuro pueden encenderse después de que la película ha sido fijada más allá del tiempo de aclaramiento. Para checar la película durante su revelado, puede iluminarse el cuarto oscuro con una luz de seguridad únicamente si ha estado en las soluciones de revelado por cerca de un minuto. El procesamiento manual toma alrededor de 45 a 90 min. El procesamiento automático por otro lado realiza el revelado completo de la película en 2 a 7 minutos.

El secado de una película de rayos X puede tomar de 15 a 30 min. Secados demasiado rápidos pueden ocasionar que se formen quebraduras sobre ella. La película puede ser leída húmeda, justo después de que ha sido removida de la solución fijadora. En este momento la película es estable y puede ser vista para emergencias, pero debe ser lavada subsecuentemente y apropiadamente secada para evitar grietas.

La temperatura de todas las soluciones incluyendo la de lavado es crítica para el desarrollo de la calidad de la imagen. La óptima es de 20°C por 5 min. para el revelado o 23°C por tres min. para el tiempo de revelado también.

La solución fijadora remueve los cristales de plata que no fueron expuestos a la película. Estos cristales pueden recobrase de la solución por electroplatinación de plata sobre electrodos colocados en la solución. Un cartucho de recuperación también puede ser utilizado; éste reemplaza la plata en la solución con otro metal.

Películas viejas o fenecidas no deben ser eliminadas, dado que contienen plata que puede ser rescatada. Es posible que la institución tenga un convenio con el distribuidor o fabricante de películas para que estas películas puedan ser recicladas.

#### **Crítica de una Radiografía**

En la crítica de la calidad de una radiografía, la densidad (obscuridad de la película), es una de las consideraciones más importantes. La densidad de los rayos X puede controlarse ajustando el milliamperaje (m As) bajándolo, subiéndolo o cambiando la distancia focal. La intensidad de la radiación (la cual afecta la densidad de la imagen) varía inversamente con el cuadrado de la distancia. Otra característica de la imagen que se refleja en la calidad de una radiografía es el contraste, el cual determina la claridad o resolución de los detalles. El contraste de los rayos X puede controlarse subiéndolo y bajándolo el voltaje.

El procesamiento de la película depende de la relación entre el tiempo y la temperatura; la densidad es críticamente afectada por la temperatura. La solución de las temperaturas en dos o tres grados menor que el óptimo, puede ocasionar que la película no se revele (una película demasiado iluminada) y dos o tres grados más



que el óptimo, puede ocasionar sobreexposición (una película demasiado oscura). La densidad también puede ser afectada por el tipo de estructura anatómica examinada. Enfermedades como el edema, ascitis o enfisema pueden afectar la densidad de la imagen.

#### **Preparación del Sujeto**

Para preparar un animal para radiografía, la superficie del área que va a ser radiografiada debe estar limpia. Partículas de polvo o yodo pueden aparecer en la radiografía como pequeñas marcas blancas. En la limpieza del animal éste se debe manejar gentilmente para minimizar el estrés. Un animal excitado o temeroso, usualmente no coopera con el manejador. Sus músculos están tensos y ocasionan dificultades para colocar al animal en la posición adecuada. Es más, un animal estresado es más fácil que se mueva lo cual ocasionaría movimientos en la película y la necesidad de tomar nuevamente la placa. Esto es especialmente importante en la preparación de animales para estudios de contraste.

El sujeto debe permanecer con el menor movimiento posible. Los movimientos pueden prevenirse por medios físicos, químicos o mecánicos. Para retener un animal químicamente se le seda o anestesia con la droga apropiada. Este puede ser detenido mecánicamente con dispositivos como bolsas de arena, soportes de poliuretano, esponjas, trapos o cintas. La sujeción física es el método menos deseable debido a que el animal puede estar fuera de control. La restricción física también expone al manejador innecesariamente a la radiación.

Es muy importante colocar al animal alineado y en simetría. La familiaridad con los términos anatómicos y los planos del cuerpo por lo tanto es crucial. La rotación debe ser evitada en algunas exposiciones de la espina, pelvis, cráneo y escápula. Algunas vistas de la espina requieren la flexión y otras la extensión. Un técnico experimentado debe estar en la posición de colocar al animal en la vista que se la solicite (Fig. 15.3).

Debido a que las radiografías proporcionan únicamente dos dimensiones de un sujeto que tiene tres dimensiones, al menos dos vistas deben ser tomadas para facilitar con exactitud la localización de las anomalías.

#### **Técnicas Especiales**

Los estudios de radiografía de contraste siempre son precedidos por una serie de radiografías tomadas previas a la administración del medio de contraste. Todos los detalles de un procedimiento especial deben ser registrados, incluyendo cantidad y ruta de administración del medio. Cada procedimiento especial es realizado de una manera definida, eliminando todas las variables, así la película es valorada con exactitud. Dado que la mayor parte de los estudios especiales involucran exposiciones múltiples, el tiempo de cada exposición debe ser registrado, para que la secuencia de las exposiciones se pueda establecer. Esto es importante especialmente en urografía (estudio de rayos X del sistema excretorio) o en cualquier otro estudio funcional.

Los medios de contraste son utilizados en animales para delinear órganos. Estos medios cambian la densidad de un órgano (para propósitos de los rayos X) que de otra manera no podrían ser vistos claramente. Existen dos medios de tipo de contraste; negativos y positivos. Los medios de contraste negativos son aquellos que son menos densos que los que rodean el tejido y entonces delinear o llenan áreas u oscurecen o ennegrecen el área. Por ejemplo, aire, óxido nitroso, dióxido de carbono y bebidas carbonatadas son medios negativos de contraste.

Los medios positivos de contraste son más densos que los que rodean el tejido, los cuales resultan en un aclaramiento o áreas blancas de la película de rayos X. El sulfato de bario y los compuestos yodados son medios de contraste positivos. La inyección de un medio de contraste para el estudio del sistema circulatorio debe ser realizada endovenosamente y rápidamente. Los bolos de compuestos orgánicos yodados para un programa intravenoso son particularmente grandes y deben ser inyectados sobre un periodo no mayor de tres minutos.

Durante la administración del medio de contraste, el técnico debe estar alerta para cualquier signo de reacción alérgica o náusea presente en el sujeto. Reacciones adversas no son comunes en animales pero pueden ocurrir y están relacionadas con la cantidad total administrada, el rango de administración y la condición del animal. El tipo de profundidad de anestesia debe ser revisado y cualquier signo de náusea o vomito identificado. El vomito o la expulsión del medio debe ser limpiada prontamente para mantener limpias las vías respiratorias. Las reacciones alérgicas deben ser manejadas de la misma manera que cualquier otra reacción anafiláctica pudiera ser manejada. En estudios del sistema urinario, la orina u otros fluidos corporales deben muestrearse para examen bacteriológico antes de la administración de los medios de contraste, dado que la mayor parte de los medios de contraste son sustancias bacteriostáticas.

**Fluoroscopia:** La fluoroscopia es una técnica especial que permite la visualización de imágenes de rayos X en una pantalla fluorescente cuando estos son expuestos. Esta técnica de rayos X puede utilizarse cuando un animal incontrolable se espera. Sin embargo, la gran cantidad de rayos X utilizada en la fluoroscopia comparada con el uso regular de técnicas de rayos X posee un riesgo mayor para quien realiza estos estudios.

Otros tipos de estudios radiográficos especiales son denominados de acuerdo a la parte o sección del cuerpo que examinan. Mielografía, por ejemplo, es la inspección por los rayos X de la médula espinal utilizando un medio radiopaco, el cual usualmente es un compuesto yodado inyectado en el líquido espinal. La angiografía es la inspección por rayos X de los vasos sanguíneos utilizando un colorante inyectado en el sistema circulatorio que delinea las venas o arterias. Otras técnicas de rayos X utilizadas para partes específicas del cuerpo. Regiones incluyen la

cistografía (vejiga urinaria), cardiografía (corazón) y artrografía (articulación).

La tabla 15.5 enlista varios tipos de procedimientos especiales de rayos X. Para preparar el animal para estos procedimientos, se le debe sujetar y dar enemas, así como cualquier otro procedimiento de rutina necesario para tomar adecuadamente la placa de rayos X. Los animales deben ser anestesiados o tranquilizados tanto como sea necesario (si la administración de la droga está permitida dentro del protocolo). Las tomas laterales y ventrodorsales o regulares de rayos X se deben tomar antes de cualquier examen especial con rayos X.

**Tabla 15.5 Procedimientos especiales de radiografía.**

Procedimientos	Técnicas
Series de bario	Dar bario. Tomar rayos X inmediatamente y después a los 15 min., 30., 1hr., 2hrs., etc.
Urograma o pielograma intravenoso	Inyección de medio de contraste I.V. Tomar rayos X a los 2min., 5min., 30min., etc.
Pneumocistograma	Pasar un cateter urinario, inyectar aire hasta encontrar resistencia. Tomar rayos X inmediatamente ventro-dorsales y laterales.
Cistograma con contraste positivo	Pasar un cateter urinario. Llenar la vejiga con Hypaque. Tomar rayos X inmediatamente ventro-dorsales y laterales.
Cistograma con doble medio de contraste	Llenar la vejiga con un medio de contraste y tomar rayos X. Remover el medio de contraste, inyectar aire y tomar más rayos X.
Mielograma	Colocar una aguja en L4-5 o L5-6 del espacio subaracnoideo. Remover líquido espinal e inyectar un medio de contraste.
Pneumoperitoneograma	Preparar a la derecha del ombligo. Insertar un venocateter a 1cm. de la línea media. Inyectar aire hasta que el abdomen se distienda ligeramente. Tomar rayos X ventrodorsal y lateral.

## CAPITULO DIECISEIS

### FARMACOLOGIA

La farmacología es un amplio campo que combina muchos de los aspectos de la bioquímica, fisiología, anatomía, histología y patología. Las limitaciones de espacio de este manual nos permiten únicamente cubrir algunos de los puntos básicos o principales de la farmacología. El material presentado aquí le ayudará a comprender los tipos de productos farmacéuticos que pueden ayudar a mantener la buena salud de los animales de laboratorio y le ayudarán a comprender como se usan estas drogas.

La preparación, el uso y efectos de las drogas involucran reacciones químicas y fisiológicas complejas. A pesar que la propiedad de uso de las drogas debe producir enormes beneficios, su uso inapropiado puede ocasionar efectos devastadores. Frecuentemente existe solo una pequeña diferencia entre la dosis terapéutica efectiva y la dosis que causa toxicidad.

Los aspectos de la farmacología presentados en este capítulo no son de alto nivel técnico. Sin embargo, usted puede utilizar la literatura citada al final del capítulo para mejorar sus conocimientos sobre alguna faceta técnica o científica.

Mantener en mente que así como en las enfermedades el agente infeccioso no es el único factor de enfermedad, las drogas pueden ser únicamente parte de un tratamiento o de la cura de una enfermedad. Por ejemplo, si un animal está débil por una mala nutrición hasta el punto de que ha sido susceptible a una infección, el simple tratamiento del animal con la droga tendrá poco efecto si no es corregida también su dieta. Para pensar que cada enfermedad o programa de salud puede ser curado simplemente por la administración de una droga, se está mal interpretando la naturaleza de la enfermedad y por que las drogas pueden ser útiles como parte de un tratamiento completo. Más importante para el bienestar general de la salud del animal de laboratorio es la aplicación de técnicas de rutina conocidas como prácticas de manejo y de desinfección.

#### MECANISMOS DE ACCION DE LAS DROGAS

A pesar de que las drogas utilizadas en forma terapéutica pueden tener diferentes efectos sobre los tejidos, las drogas usualmente se clasifican de acuerdo a su mayor efecto o acción. Las cinco principales clases de actividad mediada por drogas frecuentemente son utilizadas para estimulación, depresión, irritación, reemplazo y quimioterapia.

1.- Estimulación: Una droga estimulante incrementa la actividad de las células. Sin embargo, si las células son sobreestimuladas, sus funciones pueden perderse. En términos generales la terapia con drogas no provoca alteraciones anatómicas y la función de los

tejidos usualmente se recupera después de que la terapia es descontinuada o eliminada; por ejemplo, la estimulación de los reflejos espinales con largas dosis de cafeína.

2. Depresión: Algunas drogas actúan ocasionando o disminuyendo la actividad celular. Esta acción depresiva usualmente es muy específica. La reducción de la función o actividad usualmente es reversible, con el recobro total de las funciones cuando la droga ha sido metabolizada, excretada o ambas. La tos, por ejemplo, puede regresar después de que la depresión del centro de la tos fue inducido por codeína.

3. Irritación: Este se refiere a la acción de una droga sobre la nutrición, crecimiento o morfología celular. Irritación ligera puede estimular su actividad, pero una irritación severa puede ser fatal. Las células del tracto digestivo son irritadas por algunas drogas catárticas, causantes de que el intestino aumente la velocidad del paso de sus contenidos, lo cual reduce la irritación.

4. Reemplazo: Se pueden tratar deficiencias individuales con drogas de reemplazo provenientes de extractos de órganos o sustitutos sintéticos. Por ejemplo, se puede tratar el hipotiroidismo con extractos de tiroides y la diabetes mellitus con insulina sintética.

5. Quimioterapia: Las drogas que atenúan o matan a organismos patógenos y las drogas que matan a células tumorales malignas, usualmente sin causar toxicidad hacia el individuo tratado son denominadas agentes quimioterapéuticos. Generalmente, entre más específica es la droga para el patógeno o parásito que se quiere afectar es menos tóxica para el hospedador. Entonces, la especificidad incrementa el margen de una droga.

Esta clasificación básica de las acciones o modos de acción de las drogas no cubre todos los productos farmacéuticos, a menos que los conceptos se reduzcan. Por ejemplo, los modos de acción de las enzimas utilizadas para debridar heridas, materiales radiactivos utilizados para el diagnóstico o tratamiento, algunos tipos de anticonceptivos, agentes de diagnóstico, drogas inmunosupresoras, y agentes humectantes no llenan fácilmente este esquema.

#### CLASIFICACION DE LAS DROGAS

Debido a que hay cientos de sustancias químicas que pueden ser utilizadas como drogas, es imposible memorizar el nombre de cada compuesto y mucho menos que pudieran tener, como el efecto es creado y en que formulación y dosificación está disponible. Afortunadamente, no es necesario memorizar todos los parámetros. Una simple forma es aprender el uso de las propiedades de las drogas a través de organizatorias y clasificatorias en una lista de tal manera que proporcione una vista general de todos los tipos de drogas que existen. Armado con esta clasificación, el tipo de droga que puede ser utilizada en una situación particular puede ser

considerada y una o dos de las drogas apropiadas seleccionadas. Aunque existen una gran cantidad de caminos para clasificar las drogas todos ellos no tienen que ser recordados. Un método ya ha sido presentado aquí, el de la clasificación por el modo de acción.

Los dos métodos más comunes de clasificación sistemática están basados en el efecto primario de la droga en el sitio de acción de la droga. Debido a que la mayor parte de los libros de farmacología están organizados utilizando uno de estos sistemas, la familiaridad con estos dos sistemas es una ayuda en la localización de una droga. Si usted conoce que es lo que quiere que la droga haga o cual es el órgano o sistema afectado o enfermo. El propósito de clasificar las drogas no es el de producir una lista sino el de ayudar en la selección de la droga apropiada para una situación en particular.

#### Clasificación por el Efecto Primario

Una de las más útiles clasificaciones está basada en el efecto primario de una droga. Formas abreviadas de esta forma de clasificación se ofrece en la referencia de escritorio para el médico, el cual es un anuario actualizado de uso para farmacología humana, en el campo veterinario existen biológicos y productos farmacéuticos veterinarios, los cuales se presentan en una publicación bianual puesta al día con los últimos productos veterinarios (vea la lista de lecturas complementarias al final de este capítulo).

Este método de clasificación es útil cuando la causa exacta del problema en el animal se desconoce; se facilita la selección de la droga que puede ayudar a aliviar algunos de los signos de enfermedad. Supongase por ejemplo un animal constipado pero que se desconoce la razón por lo que lo está. La causa puede ser bolas de pelo (tricobezuas) o algunos aspectos de la dieta, o puede ser que el animal haya comido algo del material de cama. Es obvio que el animal necesita que el excremento pase y la mayor parte de laxantes tienen este efecto. Por lo que es fácil de esta manera buscar un laxante en el libro de farmacología y seleccionar uno que sea apropiado para la especie animal.

La selección de la droga más apropiada requiere del conocimiento tanto del efecto primario de la droga como el de como es producido el efecto. La mayoría de los sistemas se basan en el efecto primario subdividiéndose en una lista de acuerdo al modo de acción. Por ejemplo, algunos tipos de drogas actúan como laxantes o como catárticos, pero pueden ser clasificados como irritantes o lubricantes, agentes humectantes, catárticos. Las drogas en cada grupo difieren de como producen su efecto, pero todas producen el mismo resultado, el paso del excremento. Los irritantes catárticos pueden irritar la cubierta de la mucosa del tracto intestinal o actuar directamente sobre los nervios locales, ocasionando un incremento en la intensidad de las contracciones intestinales. Algunos catárticos absorben agua en inflamación, o de alguna otra manera eliminan el agua del contenido intestinal, en conclusión ellos incrementan el movimiento del contenido intestinal. Los

catárticos lubricantes proporcionan una cubierta a partículas del elemento, evitando la pérdida de agua e incrementando el volumen, también ocasionan que el contenido intestinal se mueva más rápidamente. Los agentes humectantes reducen la tensión superficial del contenido permitiendo que el agua entre a las partículas de comida e incremente su volumen. Este también incrementa el movimiento del contenido intestinal. Como puede verse muchas drogas producen el mismo resultado pero de diferente forma y con diferentes efectos sobre varios tejidos internos.

#### Clasificación de Acuerdo al Sitio de Acción

La clasificación de acuerdo al sitio de acción de la droga puede ser relacionado o asociado con alguna parte del cuerpo. Por ejemplo, si un animal tiene problemas estomacales la revisión del tipo de drogas que actúa sobre el estómago facilitan la elección de la droga más apropiada para crear el efecto deseado sobre el estómago.

Las drogas que producen efectos similares a diferentes partes del cuerpo pueden ser clasificadas bajo diferentes sitios de acción. Este tipo de clasificación es más útil cuando los signos de enfermedad que muestre el animal (por ejemplo, constipación) y cuando el problema básico que ocurre se conoce (por ejemplo, el estómago el cual está bloqueado por una bola de pelo). Un laxante puede ser la selección de la lista de drogas que actúan en el estómago por lubricación del bloqueador para que este pase a través del tracto intestinal.

Existen otras clasificaciones de drogas, cada una tiene un uso particular. Por ejemplo, un sistema de clasificación basado en la estructura química puede ser de interés para un químico quién estudia la relación de la estructura molecular con la función médica. Ligeros cambios en la estructura química de una droga pueden ocasionar drásticos cambios en el efecto que tiene la droga en el cuerpo o sobre la duración del efecto, o sobre cuanto se necesita crear ese efecto. La determinación de la actividad por su estructura permite el comprender donde, como y porque las drogas realizan esa acción. Conociendo estas características se facilita el desarrollo de nuevas drogas. Los farmacólogos frecuentemente son capaces de adicionar o sustraer grupos químicos de moléculas para construir drogas con acciones específicas deseables y con menos efectos indeseables. Sin embargo, el listado de la estructura química o incluso las clases de estructuras químicas que presentan las drogas están fuera del contenido de este manual. Recuerde que el aspecto importante no es memorizar los esquemas de clasificación sino aprender como usar estos esquemas de una manera organizada para la selección de la droga apropiada en un momento determinado.

#### RUTAS DE ADMINISTRACION

El tecnólogo debe de estar prevenido de la variedad de rutas que pueden ser utilizadas para introducir una droga en el cuerpo y debe comprender las ventajas y limitaciones de cada ruta. En los

animales de laboratorio, la ruta seleccionada puede ser tan importante como la droga utilizada. En algunos casos la ruta determina cual droga puede ser utilizada. Muchas drogas pueden ser administradas por más de una vía, pero muy pocas de una manera segura por todas las rutas. La forma en la cual la droga puede ser preparada limita su uso únicamente a unas cuantas vías de administración. Algunas drogas pueden ser administradas con seguridad y efectivamente cuando se administran por más de una vía pero pueden tener un efecto tóxico cuando son administradas por otra. Las drogas son administradas por cuatro principales rutas: enteral (directamente en el tracto gastrointestinal), parenteral (a través de la piel dentro de un tejido u órgano profundo), inhalación (en forma de vapor o gas que es inhalado dentro del tracto respiratorio) y tópico (directamente sobre la superficie, usualmente en la piel).

#### Administración Enteral

En términos generales la cubierta que reviste el sistema gastrointestinal se encuentra fuera del cuerpo. La absorción de sustancias en el cuerpo es un proceso activo y selectivo que toma lugar a través del epitelio que limita este sistema. La administración enteral se relaciona con el paso de sustancias directamente al tracto gastrointestinal. Las vías más comunes de administración enteral son la oral y la rectal.

Las drogas pueden administrarse oralmente en forma de tabletas, cápsulas, polvos, soluciones, o suspensiones. Las tabletas y las cápsulas usualmente se dan a los animales en forma manual, lo cual asegura que el animal reciba la dosis completa. Los polvos, las soluciones y las suspensiones generalmente son mezcladas con la comida del animal o administradas a través de un tubo estomacal en los animales grandes o una aguja para sonda en roedores. La mezcla de las drogas en el alimento es una forma segura de tratamiento para un animal vicioso, dado que el animal no necesita sujetarse y no es necesario poner las manos cerca de la boca del animal. Sin embargo, este método es menos preciso que otros, si el animal no se come toda la comida. Esto es común en el caso de las drogas que tienen un fuerte sabor.

Las drogas que se administran oralmente y que se absorben fácilmente son comúnmente utilizadas para tratamientos de todo el cuerpo o sistémicos. Otras drogas que se absorben pobremente o ejercen una acción directa, únicamente son más comúnmente utilizadas para un tratamiento local. Las sulfas entéricas, los laxantes, ciertos antibióticos de amplio espectro como la neomicina y algunos antihelmínticos se absorben pobremente en el tracto gastrointestinal.

Las drogas pueden administrarse vía rectal utilizando supositorios o enemas. Muchas drogas se absorben rápidamente por esta ruta tanto como por la vía oral. Sin embargo, la ruta rectal usualmente se utiliza únicamente en los animales que vomitan, que no pueden retener fluidos o sólidos, que están débiles o cuando la dosis regular es difícil de dar por vía oral con supositorios. Una



excepción es la rutina de utilizar enemas antes de la toma de radiografías abdominales. Las drogas administradas por vía enteral generalmente se absorben más lentamente que las administradas por una inyección, pero esta ruta proporciona un mayor margen de seguridad entre la dosis efectiva y la dosis tóxica.

#### Administración Parenteral

El término parenteral significa sin o alrededor de los intestinos. Las drogas que se administran en forma parenteral usualmente se acompañan por el uso de agujas hipodérmicas que inyectan la droga directamente en los tejidos. La administración parenteral de drogas es ampliamente utilizada en los animales debido a que las drogas pueden administrarse con un mínimo de manejo y un máximo de velocidad y esta ruta además ocasiona poco estrés a los animales. La administración parenteral también es la forma más rápida de obtener una concentración de la droga en el sistema circulatorio del animal y por lo tanto en el sitio de acción. Las rutas más comúnmente utilizadas para la administración parenteral son: Intravenosa (IV), subcutánea (SC), intradérmica (ID), intramuscular (IM), intraperitoneal (IP) e intracardiaca (IC). Existen otros tipos de rutas que pueden ser utilizados en situaciones especiales. Las rutas subaracnoidea o intratraqueal son utilizadas para colocar drogas en el líquido cefalorraquídeo; por ejemplo, para la administración de anestesia espinal. En la ruta intraarticular la droga se deposita dentro del espacio articular. En la ruta intranasal la droga es instalada en la nariz. Este es un método útil para administrar algunas drogas, vacunas u organismos infecciosos en el sistema circulatorio. La droga se prepara de tal manera que puede ser administrada en aerosol, como niebla, dentro de la mucosa nasal, donde la densa malla de vasos sanguíneos absorbe la droga en el sistema circulatorio. En la ruta conjuntival la droga se coloca bajo la superficie del tejido que cubre la conjuntiva del ojo de una manera muy similar a la inyección intradérmica que se realiza entre las dos láminas de la piel. A partir de este sitio la droga es liberada lentamente. Este método es efectivo para el tratamiento de ciertas condiciones oftálmicas.

La administración subcutánea incluye hipodermoclisis, la cual es la inyección en el tejido subcutáneo profundo de largas cantidades de líquidos para prolongar su absorción y apoyar la administración intravenosa. Otra técnica subcutánea es la implantación de pellet. En esta técnica las drogas son mezcladas con un material insoluble y son implantadas subcutáneamente para proporcionar una lenta y continua aplicación de la droga por semanas o meses.

Las drogas administradas parenteralmente usualmente son soluciones que pueden ser emulsificadas. Estas deben ser estériles, no irritantes y libres de pirogenos; esto es, no deben contener sustancias que ocasionen fiebre. Si las drogas inyectables, jeringa y agujas no son estériles pueden presentarse infecciones y daños en el tejido. Algunas drogas irritantes pueden ocasionar abscesos estériles o derrames si son inyectadas fuera del lugar absceso. Algunas drogas irritantes pueden presentarse accidentalmente en la

corriente sanguínea debido a su rápida dilución en la sangre; por ejemplo, soluciones anestésicas de barbitúricos.

#### **Administración por Inhalación**

La administración por inhalación es la administración de drogas en el paciente haciendo que el paciente inhale la droga en su tracto respiratorio. La droga a administrarse debe ser un gas, un vapor o una fina niebla. Una partícula o gota de cinco micrones puede ser incompatible con algunas estructuras a lo largo del tracto respiratorio antes de que este alcance la mayor porción de absorción en el pulmón que son los alvéolos.

Los principales usos de esta ruta de administración es para la dosificación de gases anestésicos. Tratamientos de enfermedades respiratorias también pueden ser dados por esta ruta.

Las ventajas primarias de la inhalación son que la droga se absorbe rápidamente y en el caso de los anestésicos también se eliminan rápidamente. Esto promueve una rápida recuperación después del efecto clínico. Las desventajas son que las drogas deben ser administradas a través de un tubo endotraqueal, una máscara o una cámara de inhalación. Para ser entubados, los animales deben estar inconscientes ya que son pocos los animales que aceptan respirar a través de una máscara sin que sean firmemente sujetados o previamente entrenados. Las cámaras de inhalación frecuentemente son caras y la cámara debe llenarse primero con el gas o vapor para forzar al animal a que inhale la droga.

#### **Administración Tópica**

Las drogas administradas por vía tópica se aplican directamente a la piel o en las membranas externas. Estas drogas pueden ser soluciones, suspensiones, lociones, cremas o pastas. Las drogas de este tipo usualmente son utilizadas para tratamiento localizado. En las vías de administración oral y parenteral, el total de la dosis de administración es importante. Sin embargo, con el uso tópico, el total del área tratada y el sitio de aplicación son más importantes debido a que únicamente la droga que está en contacto directo con la piel o las membranas será la absorbida. Esta ruta de administración proporciona el rango más lento de absorción en el cuerpo pero proporciona una alta concentración de la droga en el área donde es aplicada. Esto es una ventaja cuando la droga que se necesita administrar en altas dosis en un área pequeña puede ser tóxica si es proporcionada por vía parenteral.

La administración tópica tiene varias desventajas cuando se utiliza en animales. Si las drogas se aplican en un área cubierta por pelo o plumas, esto ocasiona un pobre contacto con la piel. La suciedad y el material de cama que esté en contacto se adhiere al sitio. Aún más, las drogas aplicadas por vía tópica son fácilmente lavadas o lamidas o menos que el animal tenga algo que lo evite. Finalmente, debido a que el rango de absorción es lento la mayor parte de las drogas utilizadas por esta vía únicamente pueden tener un efecto localizado.

### Selección de la Ruta de Administración

Cuando se selecciona la ruta de administración uno debe considerar la forma en la cual la droga está disponible, los beneficios y los efectos tóxicos que pueden existir cuando se administra por ésta ruta y los aspectos prácticos de utilizar ésta ruta. Algunas drogas están disponibles únicamente en una forma debido a que estudios farmacológicos del mecanismo de acción de estas drogas han determinado que otra forma sería inefectiva. Obviamente, una droga no puede ser administrada por inyección si únicamente está disponible como una crema para uso tópico. Las características químicas de una droga pueden limitar su disponibilidad para su uso en otras rutas de administración. Por ejemplo, un aceite mineral purgante o un laxante pueden administrarse únicamente por vía oral.

Algunas drogas son poco efectivas, tóxicas o ambas cuando son administradas por una ruta equivocada. Por ejemplo, muchos antibióticos no pueden ser administrados por vía oral debido a que la acidez del estómago los destruye antes de que puedan ser absorbidos eficazmente y transportados a la corriente sanguínea. Nistatin, un antifúngico que puede ser utilizado seguramente tanto en forma oral como tópica es tóxico si es inyectado directamente a la corriente sanguínea. Algunas drogas tienen efecto completamente diferente cuando son administrados por otra ruta. El sulfato de magnesio, por ejemplo actúa como un catártico cuando es administrado por vía oral, como un depresor del sistema nervioso o hipnótico cuando se da endovenosamente y como un antiinflamatorio cuando es administrado en forma tópica.

Cuando se trabaja con animales, las consideraciones prácticas son más importantes que las consideraciones médicas. Es absurdo e incluso peligroso por ejemplo, el intentar aplicar una crema tópica varias veces al día a un baboon que está en una jaula grande y que no tiene equipo de sujeción. En forma similar, el uso de las cámaras de inhalación para administrar un antibiótico a un caballo sería sumamente costoso y prohibitivo no únicamente construir el aparato sino incluso operarlo.

La relativa rapidez de absorción de una droga y su concentración en el torrente sanguíneo están relacionados con la ruta de administración (Tabla 16.1). En algunos casos el sitio donde se administra la droga es tan importante como la ruta de administración. Por ejemplo, un anestésico local debe ser colocado en un sitio específico para obtener una anestesia regional o en el caso de desearse anestesia por bloqueo epidural debe colocarse donde los nervios penetran las membranas que cubren la médula espinal. El bloqueo paravertebral puede obtenerse depositando anestésico alrededor de los nervios cuando estos salen de la columna vertebral. En los casos de un infiltrado regional, el anestésico debe ser inyectado en los tejidos próximos a los nervios que inervan la región a ser anestesiada.

**Tabla 16.1** Tiempo promedio de acción de una droga administrada por las diferentes rutas.

<b>Ruta</b>	<b>Tiempo promedio (en minutos)</b>
Intravenosa	Inmediata (< 1)
Intracardiaca	Inmediata (< 1)
Intramuscular	Muy rápida (< 10)
Intraperitoneal	Muy rápida (< 10)
Inhalación	Muy rápida (< 10)
Subcutanea	Rápida (10-60)
Oral	Intermedia a lenta (< 60)
Tópica	Intermedia a lenta (< 60)

## FORMAS DE DOSIFICACION

Las drogas están preparadas para su administración en una gran variedad de formas. Como en el caso de los esquemas de clasificación de drogas, no es necesario memorizar todas las formas. Es importante, sin embargo, el conocer las formas generales de dosificación disponibles y las más apropiadas para una ruta de administración específica.

**Presentaciones para Administración por vía Enteral:** Las drogas para administración oral generalmente se preparan como soluciones, suspensiones, cápsulas o tabletas. Las soluciones están disponibles como infusiones con base en agua, extractos de drogas crudas, decantadas (extracciones acuosas obtenidas utilizando agua a punto de ebullición para extraer el ingrediente activo), tinturas (alcohol o extractos de drogas en alcohol-agua) y extractos fluidos (extractos de drogas concentradas en líquidos).

Los extractos fluidos usualmente se preparan para que la cantidad del ingrediente activo en 1ml de extracción sea el equivalente a la cantidad de la actividad en 1g de droga cruda. Las soluciones pueden también tener saborizantes, edulcorantes o colorantes para hacerlas más agradables y apetecibles.

Las suspensiones son mezclas de drogas insolubles u otras sustancias con líquidos como aceite, agua o alcohol. Una suspensión puede incluir más de una droga, siempre y cuando ésta droga no reaccione con otra sustancia química o se deprima su actividad biológica o se active. Para asegurar la dosis apropiada, las suspensiones deben estar completamente mezcladas antes de su utilización.

Las cápsulas son pequeños recipientes que son solubles en los fluidos intestinales y estomacales. Usualmente están hechas de gelatina y pueden ser rígidas o plegables. Las drogas se administran dentro de este tipo de recipiente. Las drogas por si solas pueden ser un polvo o pueden ser un número de pequeñas esferas cubiertas para disolverse a diferentes velocidades en el estómago o en el intestino. Lo último es llamado cápsulas de liberación prolongada. Las drogas encapsuladas también pueden disolverse en sustancias denominadas vehículo.

Las tabletas son preparados sólidos que se moldean en diferentes formas y tamaños. Están compuestas por una droga que ha sido mezclada y comprimida en una forma determinada. Las tabletas pueden tener cubierta especial, denominada capa entérica, que es insoluble en el estómago pero se disuelve en el intestino delgado. Las cubiertas entéricas protegen a la droga de que pueda ser destruida por los líquidos estomacales o que pueda ocasionar irritación al estómago pero no al intestino.

Un bolo es una tableta larga que se utiliza usualmente para la administración de drogas en el ganado. Ellas son depositadas en la parte posterior de la boca utilizando un instrumento denominado pistola de bolos. Las drogas pueden ser administradas por vía

rectal si el paciente es incapaz de tragar o de retener preparaciones orales. La administración rectal de medicamentos usualmente se da en forma de supositorios o enemas de retención. En los enemas de retención, la droga usualmente se administra en una solución acuosa o suspensión. Un supositorio consiste de una mezcla de la droga con una sustancia semisólida que se disuelve o derrite a la temperatura corporal; la manteca de cacao o la gelatina glicerinizada pueden ser algunas de estas sustancias.

Formas de Presentación para la Administración Parenteral: Los preparados para administración parenteral deben de disolverse en un medio estéril, libre de pirógenos. Las drogas para ser administradas por vía intravenosa, intra-arterial o intracardiaca, usualmente se disuelven en agua en una solución isotónica (0.9%) o en una solución salina con dextrosa. Si estas deben ser administradas por alguna otra ruta parenteral estas deben disolverse en aceite mineral estéril, dado en una suspensión o preparadas como una solución acuosa-alcohólica. Se pueden utilizar depósitos de infusión cuando una concentración en particular de la droga debe mantenerse por un periodo largo de tiempo sin que se administre ésta continuamente. Un depósito de infusión disuelve lentamente y mantiene una concentración constante de la droga en el sistema circulatorio. Ocasionalmente las drogas deben ser mezcladas con otras drogas que causen una constricción local de los vasos sanguíneos, reduciendo de esta forma el rango al cual la primera droga se absorbe en el sitio de inyección. Si es necesario que la droga se disperse rápidamente ésta puede ser mezclada con un agente como pueden ser enzimas que disuelvan el tejido conectivo permitiendo que la droga se difunda rápidamente.

Formas de Presentación para Productos Administrados por Inhalación: Las drogas administradas por inhalación usualmente son gases, pero se pueden agregar al aire soluciones y polvos que producen un aerosol o una mezcla similar a humo la cual es inhalada por el paciente. Si el tamaño de la partícula del aerosol no es extremadamente pequeña (cinco micrones o menos), la droga no alcanzará las áreas profundas de los pulmones.

Formas de Presentación para la Administración Tópica: Existen gran número de vehículos utilizados en la preparación de drogas para aplicación tópica. Las soluciones alcohólicas y acuosas que contienen drogas generalmente son utilizadas para untarlas en el área de tratamiento. Los polvos en los cuales una droga pulverizada es mezclada con una sustancia inerte, como talco u otro pulverizante como puede ser óxido de zinc también son aplicadas por vía tópica. Las emulsiones son mezclas de drogas en agua, emulsificadas en aceite mineral (cold creams) o aceite emulsificado en agua (cremas evaporantes).

## FACTORES QUE AFECTAN LA RESPUESTA A LAS DROGAS

La farmacología podría ser mucho más simple si cada vez que una droga es administrada a un animal, está pudiera ocasionar exactamente el mismo efecto. Desafortunadamente, este no es el caso. Muchas situaciones o condiciones afectan el efecto de una droga. Algunas están relacionadas con la droga en sí; por ejemplo, la dosis, la forma, la concentración o la potencia. Otros factores están relacionados con el animal en el cual la droga es utilizada; por ejemplo, la especie, la edad, el carácter, su condición de salud y la nutrición por nombrar algunos. Para seleccionar y utilizar agentes terapéuticos apropiadamente, debe de comprenderse los factores que afectan la interacción entre las drogas y los animales.

**Variaciones por Especie:** Las variaciones por especie son particularmente importantes debido a que algunas especies responden en forma diferente a una misma droga, por ejemplo, los gatos a los cuales se administra opiates muestran estimulación del sistema nervioso central más que una depresión que se observa en otros animales de laboratorio. Los ruminantes, como el ganado, las ovejas y las cabras no responden a muchos alcaloides administrados oralmente debido a que son degradados por la acción bacteriana del rumen; los animales no ruminantes responden mejor a los alcaloides. Los roedores y los caballos no tienen reflejo del vomito, así que pueden ser envenenados por drogas que otras especies podrían eliminar a través del vómito.

**Edad:** Algunos sistemas enzimáticos cambian con la edad. Así mismo, el riñón y las funciones hepáticas usualmente son reducidas en los animales muy jóvenes y muy viejos; estos animales no eliminan las drogas rápidamente.

**Sexo:** El sexo de un animal puede afectar la acción de una droga en diferentes formas. Algunas hormonas diferentes entre machos y hembras pueden afectar la acción de ciertas drogas. En algunas especies hay características de diferencias en el tamaño entre el macho y la hembra y el peso corporal influencia directamente en la concentración en el sitio de acción.

**Hora del día:** Los cambios rítmicos diarios en la actividad corporal y sus funciones afectan el rango de absorción y distribución de las drogas en los tejidos.

**Temperamento:** El temperamento de un animal afecta ciertos tipos de respuesta a las drogas. Por ejemplo, animales nerviosos frecuentemente requieren más tranquilizante o anestésico que los animales calmados.

**Rangos de Inactivación y Excreción:** Estos afectan la concentración de la droga mantenida en los tejidos. Si una droga es inactivada o excretada lentamente, dosis repetidas pueden acumularse en los tejidos a niveles mayores de los deseados. Para

que una droga sea segura y efectiva, las drogas deben ser administradas repetidamente a niveles que corresponden con los rangos de inactivación y excreción (dosis de mantenimiento), entonces se mantienen constantes en los niveles deseados en los tejidos.

**Variables Fisiológicas:** El contenido de agua y electrolitos como la concentración de sodio, potasio y iones de cloro, temperatura corporal, frecuencia respiratoria y la frecuencia de producción de orina, también afectan la respuesta de los animales a las drogas.

**Condiciones Patológicas:** Daño hepático y renal pueden afectar la respuesta a las drogas principalmente en su grado de metabolización y excreción a través de estos órganos, reduciendo la inactivación y excreción de la droga.

**Herencia:** Los factores genéticos son importantes en la acción de la respuesta de un animal hacia las drogas. Se ha demostrado que la presencia de caracteres genéticos específicos ocasionan un incremento o decremento en los niveles de ciertas enzimas; por ejemplo, atropinoesterasas en el suero de algunos conejos. Estas diferencias enzimáticas pueden ocasionar una tremenda variación en la cantidad y tipo de efectos que la droga pueda tener en el cuerpo.

#### USO TERAPEUTICO DE LAS DROGAS

La terapia con drogas es un tópico extremadamente complejo el cual cuando se pone en práctica es mucho más un arte que una ciencia. El buen juicio y la experiencia son necesarias para lograr el mejor uso de una droga en un animal. Las drogas pueden ser utilizadas de tal forma que únicamente produzcan alivio de los síntomas; esto es, ellas alivian los síntomas sin afectar la causa. La morfina, por ejemplo, alivia el dolor pero no hace nada para corregir la causa del dolor. Como sucede con otras drogas, las dosis publicadas de morfina representan las dosis recomendadas para los animales promedio y deben ser utilizadas únicamente como un punto inicial del cual se estimarán las necesidades individuales del paciente. Las dosis para cada animal deben ser ajustadas a las necesidades del animal considerando todos los factores que pueden afectar la respuesta del animal a la droga. La dosis terapéutica debe ser suficiente para producir el efecto farmacológico deseado y esto puede no necesariamente ser la cantidad exacta sugerida por el fabricante.

La tolerancia y la sensibilización a la droga son fenómenos relacionados pero opuestos. Están relacionados con la respuesta individual a una dosis normal. La tolerancia es un decremento en la magnitud de respuesta a una dosis normal, mientras que la sensibilización es un incremento en su respuesta. Uno o ambos cambios pueden estar relacionados con cambios en la producción enzimática, metabolismo o vías metabólicas. Ocasionalmente, la tolerancia cruzada a otras drogas o drogas de grupos relacionados se pueden desarrollar del uso de un solo miembro de este grupo.



Si la respuesta de dos o más drogas administradas simultáneamente es diferente (usualmente más intensa o prolongada) de lo que pudiera observarse cuando la droga es administrada sola, se dice entonces que existe sinergia; por ejemplo, el aumento del efecto bactericida de combinar estreptomycinina y penicilina. La potencialización usualmente se refiere a la intensidad de la acción de una droga la cual es producida por otra droga con una acción no relacionada; por ejemplo, la epinefrina potencializa la duración de la anestesia producida por procaina. La ventaja de la sinergia o de la potencialización de dos drogas, consiste en el uso de dosis más pequeñas de la dosis normal para cada droga, con el beneficio de obtener una reacción normal pero con una gran reducción de toxicidad. Sin embargo, la combinación de las drogas deben ser comprendidas y seleccionadas cuidadosamente dado que pueden ser incompatibles una con otra. En estos casos las drogas pueden reaccionar de una forma diferente o pueden ser tóxicas o carentes de efecto. Todas las drogas, incluso el agua son tóxicas o producen efectos tóxicos si se administran en exceso. Para determinar el efecto tóxico de la droga se requiere comparar la cantidad de droga que produce signos de toxicidad o muerte con la cantidad requerida para producir los efectos benéficos deseados. El promedio resultante es denominado índice terapéutico o margen de seguridad. Esto puede ser expresado en una ecuación como a continuación se describe:

$$\frac{\text{dosis tóxica}}{\text{dosis efectiva}} = \text{índice terapéutico (IT)}$$

Si se requiere administrar una droga a una dosis de 10mg/Kg de peso corporal para crear un efecto tóxico y únicamente 2mg/Kg peso corporal para producir un efecto terapéutico con la misma droga, el índice terapéutico o margen de seguridad es igual a 5mg/Kg De la misma manera, si una droga tiene un índice terapéutico de 20, esto significa o se requiere 20 veces más droga para crear un efecto tóxico con respecto del efecto terapéutico. En el segundo ejemplo, la droga pudiera ser cuatro veces más segura para administrar que la droga del primer ejemplo.

#### DISTRIBUCION Y ELIMINACION DE DROGAS

La distribución de drogas en el cuerpo puede variar considerablemente. Algunas drogas se encuentran a través de todos los compartimientos de los fluidos corporales incluyendo las células. Otras drogas no pueden penetrar las membranas celulares y por lo tanto se restringen a los espacios fluidos alrededor de las células. Algunas drogas se unen específicamente a proteínas en el fluido intracelular. El yodo, por ejemplo, se une firmemente a la hormona de tiroides. El patrón de distribución de las drogas en el cuerpo cambia con el tiempo, pero las drogas dentro de las células se mantienen durante más tiempo que aquellas que están fuera de las células.

El destino final de la droga está relacionada con su metabolismo y fenómeno de aclaramiento. Las drogas son inactivadas por una variedad de cambios que resultan de los procesos metabólicos normales del organismo. Las drogas usualmente son metabolizadas y convertidas en compuestos inertes. En algunos casos, sin embargo, las drogas pueden ser cambiadas a otras de igual potencia o algunas veces incluso ser más potentes.

El aclaramiento de la droga es el rango de excreción de una droga. La ruta primaria de excreción es a través de los riñones, aunque algunas sustancias son parcialmente excretadas a través del hígado en la bilis y pasan al exterior del cuerpo a través del excremento.

Algunas drogas son excretadas en la orina prácticamente sin cambios, pero la mayoría son excretadas en formas metabolizadas o desintoxicadas. Las rupturas metabólicas o desintoxicaciones, usualmente ocurren en el hígado. La presencia de una enfermedad o de un daño hepático o renal debe ser seriamente considerada cuando se selecciona una droga y su dosificación.

Las drogas volátiles son excretadas a través de la orina pero son liberadas en forma masiva por el pulmón pasando al exterior del cuerpo en el aire exhalado.

#### **DROGAS O SUSTANCIAS CONTROLADAS**

Las drogas utilizadas en la medicina de los animales de laboratorio tienen el riesgo de ser potencialmente utilizadas para los seres humanos y producir adicción con su abuso por lo que requieren un manejo especial. En los Estados Unidos la ley federal para regular el abuso y control de drogas, publicada en 1970, especifica cuales drogas son sustancias controladas.

La ley clasifica a las drogas que tienen un uso potencial para abuso en cinco diferentes categorías y especifica drogas en cada una de estas categorías.

La categoría I incluye las drogas que tienen una alta potencialidad por su abuso, no aceptadas comúnmente para tratamiento médico y que carecen de una seguridad aceptable. Las drogas especificadas en este grupo incluyen la heroína, LSD y marihuana. Es ilegal el poseer estas drogas sin una licencia para su uso en experimentos. La categoría II incluye drogas derivadas del opio, codeína, pentobarbital y otras que tienen un alto potencial para abuso o adicción pero que se ha reconocido que tienen uso médico. Las categorías III, IV y V contienen drogas que tienen menos posibilidades de ser adictivas o tienen menos posibilidades potenciales para su abuso.

No es necesario memorizar todas las drogas de cada categoría pero es importante comprender el manejo especial y la necesidad de mantener registros cuando se utilizan drogas controladas. En los Estados Unidos se requieren licencias federales y estatales para obtener drogas controladas. Los registros detallados deben de mantenerse para mostrar que han frecuentemente se esta recibiendo en el bioterio una droga controlada, cuando y como la droga fue

utilizada y cuanto de esta se maneja normalmente. También se requieren detalles de como la droga esta siendo almacenada. Los bioterios que tienen estas licencias deben de mantener las drogas controladas y otras sustancias controladas accesibles a una inspección no anunciada de agentes de la Oficina para el Control de Drogas de los Estados Unidos.

La mayoría de la instituciones designan a algunos individuos como los únicos autorizados para ordenar y recibir sustancias controladas. Estos individuos deben mantener el inventario de las drogas y deben de mantenerlas en cuando menos dos alacenas bajo llave. Usualmente las drogas son mantenidas en gabinetes de acero inoxidable detrás de puertas bajo llave. Cada vez que una droga es utilizada debe ser dada de baja en la lista del inventario, la cual muestra cuando y como la droga fue autorizada para ser utilizada, quién la recibió y quién la manejó. Cada vez que la droga es utilizada en un animal, la fecha, la hora, la cantidad utilizada y el proyecto específico, así como el animal en el cual la droga fue utilizada debe registrarse en la hoja de inventarios. Una forma similar de registro de la sustancia controlada debe de realizarse en el registro de los animales o el cuaderno de notas del investigador.

En los Estados Unidos es un delito federal el abuso de estas drogas o mantener registros incorrectos. Las violaciones a esta ley pueden ocasionar la revocación de la licencia para comprar estas drogas e incluso castigarse con la cárcel. Es por lo tanto importante comprender las políticas para el control de drogas del bioterio así como seguir las minuciosas y constantemente.

## CAPITULO DIECISIETE

## ENFERMEDADES COMUNES DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO Y SU TRATAMIENTO

En este capítulo se enlistan y discuten algunas de las enfermedades más comunes de los animales de laboratorio que no fueron cubiertas en la sección I de este manual de entrenamiento. También se incluyen algunas descripciones de las enfermedades más comunes de los animales de granja como caballo, ganado bovino y porcino.

## RATAS Y RATONES

Virus Sendai: Mientras que el virus Sendai comúnmente infecta ratas de laboratorio, sus signos clínicos más importantes ocurren en el ratón. Esta enfermedad viral ha sido aislada de otros roedores de laboratorio y del cerdo. En los ratones adultos generalmente no se muestran signos de enfermedad, pero en los animales jóvenes (recién nacidos y lactantes) así como los muy viejos, puede producir una enfermedad aguda y fatal. Ciertas cepas de ratón como la 129 y la DBA, parecen ser más susceptibles para sufrir la enfermedad. La cepa Balb/c y C57 BL, son cepas mucho más resistentes.

Este virus es altamente infeccioso y se disemina rápidamente. La morbilidad usualmente se aproxima al 100%. El virus Sendai frecuentemente suprime el sistema inmune, ocasionando que los animales afectados desarrollen infecciones bacterianas secundarias. La enfermedad aumenta por el estrés. Los signos clínicos incluyen mala apariencia general, pelo erizado, posición encorvada, disnea y sonidos respiratorios. Un decremento en el tamaño de la camada y crías débiles es un resultado común de un brote en una colonia reproductora.

Micoplasmosis: En las ratas el *Mycoplasma pulmonis* produce signos clínicos comúnmente denominados enfermedad crónica respiratoria (ECR), o micoplasmosis respiratoria murina (MRM). MRM ha sido y es en muchas colonias el principal problema de salud de las ratas de laboratorio. Cuando es endémica en una colonia es generalmente un factor limitante de la vida. La enfermedad puede empezar como una infección del oído interno medio, la cual puede resultar en una pérdida de equilibrio severa. Sin embargo, aunque las lesiones pulmonares únicamente se observan en las últimas fases de la enfermedad, *M. pulmonis* es un agente primario patógeno del tracto respiratorio. El estrés, como la sobrepopulación o los procedimientos experimentales ocasionan un incremento en la mortalidad.

La necropsia macroscópica revela áreas de color rojo a gris como consolidación de los pulmones, frecuentemente con abscesos. En la mayor parte de las ratas la ubula del oído contiene un exudado blanco. El examen microscópico revela bronconeumonía purulenta crónica severa con bronquiectasis y una marcada hiperplasia

linfoide peribronquial. En el oído se encuentra otitis media purulenta. Los anticuerpos circulantes no parecen desempeñar un papel en la protección contra la enfermedad.

Una vez establecida, *M. pulmonis* se convierte en endémica en la colonia y no puede ser erradicada fácilmente. Las colonias de algunos distribuidores comerciales de roedores están libres de micoplasma. Esto es importante por que los animales pueden ser comprados de un proveedor confiable, aislarlos de otras especies y mantenerlos detrás de una barrera.

Recientemente, otras especies de microorganismos como los bacilos respiratorios asociados a cilios (CAR), han sido relacionados con enfermedades respiratorias. Este bacilo gram-negativo no crece en medios desprovistos de células y solamente ha sido visto bajo microscopio electrónico.

Virus de la Hepatitis del Ratón (VHR): VHR es una enfermedad viral común en los ratones. Esta puede existir en una forma inaparente o puede causar encefalitis, hepatitis o enteritis. Existen varias cepas del virus de la hepatitis del ratón. La cepa de virus más virulenta produce hepatitis y enteritis con una alta mortalidad. VHR es responsable por una enfermedad realmente referida como la enfermedad letal intestinal del ratón infante conocida por sus siglas en inglés como LIVIM. El virus, se piensa es la causa primaria o fatal de la enfermedad del desgaste en ratones desnudos. La habilidad de los macrófagos para soportar la replicación viral de VHR y el bajo nivel de linfocitos T funcionales son los dos factores principales que determinan la susceptibilidad de VHR en las diferentes cepas de ratones.

VHR puede ocasionar también inmunosupresión o inmoestimulación durante las infecciones agudas y esto puede ocasionar inmunosupresión crónica en una infección persistente. De ahí la importancia de que los investigadores utilicen en sus estudios de inmunología ratones libres de VHR.

Virus de la Sialodacryoadenitis (VSDA): El VSDA fue reconocido por primera vez como un agente infeccioso de las ratas en 1961. El VSDA es un coronavirus que esta antigenicamente relacionado con el coronavirus de la rata, el virus de la hepatitis del ratón y el coronavirus humano OC38. Esta enfermedad puede presentarse con o sin signos clínicos aparentes. Aunque algunas ratas infectadas pueden estar cautivas y comer bien, el examen cuidadoso revela edema en la región del cuello. Esto se debe a que las glándulas salivales están afectadas, las ratas con una infección activa frecuentemente reducen su consumo de alimento, lo cual distorsiona las curvas de alimentación y crecimiento en los estudios que se realicen con estos animales. Microscópicamente, los cambios en las glándulas de Harder y las glándulas salivales pueden ser muy dramáticos. Los signos son necrosis, inflamación intensa y frecuentemente metaplasia escamosa marcada del epitelio de los ductos.

Algunos animales infectados desarrollan lesiones oftálmicas, estas se observan como áreas nubosas en las corneas con una descarga de color rojizo o lágrimas rojizas. Estas lesiones consisten de queratoconjuntivitis, úlceras corneales y sinequia del iris y de los cuerpos ciliares. Con un tratamiento apropiado estas lesiones pueden desaparecer en cerca de diez semanas, pero el megaloglobos (alargamiento del globo ocular) puede persistir. Estas lesiones oculares severas hacen a las ratas infectadas inapropiadas para la investigación en la cual los ojos son el órgano a estudiar. La enfermedad es altamente contagiosa y frecuentemente se disemina en las colonias productoras de ratas en investigación.

**Parásitos Internos:** Muchos ratones y ratas mantenidos en condiciones convencionales están infestados por nematodos. Frecuentemente no presentan signos clínicos. Ocasionalmente se presenta prolapso rectal en los grupos de animales jóvenes con una alta infestación. Algunos cambios de conducta se pueden manifestar por el hábito de rascarse el área rectal sobre todo en animales fuertemente infectados. Las infecciones por nematodos pueden detectarse en los roedores, realizando exámenes fecales buscando la presencia de huevos o parásitos vivos. Se debe tener un gran cuidado al manejar las excretas o muestras fecales ya que estos organismos son fácilmente transmitidos a través de la contaminación de la ropa, las manos e incluso el aire. Una vez que se diseminan estos son difíciles de erradicar, debido a que sus huevecillos son altamente resistentes a la destrucción química o la destrucción por calor o secado.

**Viruela:** Esta enfermedad es causada por el virus de ectromelia. La presencia de ésta enfermedad en los Estados Unidos es rara, ésta enfermedad es importante debido a que usualmente ocasiona una alta morbilidad y una alta mortalidad. Dependiendo del fenotipo del ratón, el virus de ectromelia puede producir una enfermedad severa con hepatitis aguda y una alta mortalidad. En los animales que sobreviven suficientemente ésta produce comezón generalizada y en algunos una infección inaparente y trivial. Esta enfermedad frecuentemente se transmite a través de la importación de ratones y de material biológico como cultivo de tejidos y trasplantes de tumores. Los signos clínicos pueden presentarse en una gama desde ninguno (subclínico), hasta extremadamente evidentes, posición encorvada, pelo erizado, edema facial, conjuntivitis aguda, comezón en el cuerpo, necrosis y edema de las extremidades con amputación o muerte esporádica. Las lesiones cutáneas pueden parecer heridas por peleas. El diagnóstico puede ser confirmado por la histología y la serología. No existe tratamiento. La vacunación con virus Vaccinia protege a los ratones contra los efectos letales de la enfermedad pero no les quita la infección.

**Coriomeningitis Linfocítica (CML):** Esta enfermedad se encuentra en forma natural en los ratones, hámsters y humanos. En el ratón, existen cuatro patrones básicos de infección; la forma cerebral en

adultos, la forma visceral en adultos, la presentación tardía en ratones portadores asintomáticos y la muerte súbita en neonatos. Aunque los cobayos y otras especies ocasionalmente son infectados con el virus, únicamente los ratones y los hámsters se conoce pueden transmitir éste virus. El virus no es común en los bioterios modernos. La infección usualmente es introducida a través del cultivo de tejidos, tumores, trasplantes y animales portadores.

**Ectoparásitos:** Prácticamente todos los roedores ordinarios son portadores de ácaros, pero muchos de ellos no muestran signos clínicos. Los ácaros y los piojos pueden ser detectados por el examen del pelaje del animal bajo el microscopio de disección. Un animal clínicamente afectado se rasca continuamente a sí mismo y presenta enrojecimiento de la piel especialmente alrededor de la cabeza. La apariencia de su pelaje es opaco, ligeramente grisiento y animales fuertemente infestados no ganan peso normalmente. Esto usualmente se debe a que los animales están tan ocupados rascándose a sí mismos y asicalandose que no se alimentan adecuadamente. Si el parásito succiona sangre, los animales también pueden estar anémicos. Algunas especies de ectoparásitos pueden transmitirse a los humanos.

Un método común de erradicación de ectoparásitos de roedores en la colonia es el reiniciar la colonia con animales que han sido derivados por cesárea y manteniendo a sus crías con madres nodrizas libres de parásitos. Estos animales deben mantenerse en barreras adecuadas.

#### COBAYOS

**Pneumonia bacteriana:** Esta es una causa común de muerte en los cobayos. Frecuentemente esta asociada con *Bordetella bronchiseptica* y *Streptococcus pneumoniae*. Estas enfermedades pueden permanecer inaparentes en los animales hasta que son precipitadas por el estrés. La mayor parte de los signos clínicos son enteramente inespecíficos; anorexia, pelo erizado, disnea ocasional y descarga nasal. La muerte aguda puede ocurrir. Dado que algunos conejos pueden ser portadores sintomáticos de *B. bronchiseptica*, es extremadamente recomendable que los conejos y los cobayos no sean alojados en el mismo cuarto.

**Malocclusión:** Este es un problema que se observa en cobayos, debido principalmente a su asociación con los molares y premolares más que con los incisivos y puede no ser fácilmente observada. Los signos clínicos incluyen pérdida crónica de peso y gran salivación. El pelo de los cachetes y cuello puede estar húmedo y se observa de un color verdoso. El tratamiento consiste en limar los dientes, el cual es un procedimiento difícil y poco reductible.

#### CONEJOS

**Pasteurellosis:** Esta enfermedad es causada por la bacteria *Pasteurella multocida*. Es una enfermedad común en conejos y difícil de tratar debido a que el organismo se localiza en diferentes

órganos. Muchos conejos son portadores asintomáticos. La enfermedad puede diseminarse por la transmisión de aerosoles o por contacto directo. El estrés puede exacerbar los signos de la enfermedad. Los signos clínicos incluyen descargas mucopurulentas y oculares, estornudos, exudado sobre las extremidades anteriores, cabeza caída (asociada con otitis media y otitis interna), abscesos localizados e infecciones genitales. Si la enfermedad progresa ésta se convierte en neumonía y se desarrolla cianosis. Aunque *Pasteurella multocida* usualmente es sensible a los antibióticos, éstos en rara ocasión producen una cura completa. Las remisiones usualmente se presentan. La utilización de conejos resistentes a *Pasteurella* puede ser la forma más adecuada para controlar la enfermedad. Existen varias fuentes de conejos libres de *Pasteurella*. El uso de estas cepas permite fácilmente eliminar la enfermedad de conejos en la colonia a través de la despoblación/repoblación.

**Enteropatía Mucóide:** Este síndrome no ha sido bien estudiado. Usualmente se observa en conejos de 3 a 10 semanas de edad que han sido estresados recientemente. Los signos clínicos incluyen moco en el piso de las jaulas, distensión abdominal, deshidratación, humedad y manchas alrededor del ano, rechinado de dientes y sonidos de dolor y molestias cuando el abdomen es percutido o palpado. Aunque no ha sido establecida la causa de la enteropatía mucóide, la reducción del estrés, las buenas prácticas de desinfección, descontaminación y un incremento de fibra en la dieta parece que previenen la enfermedad. El tratamiento se basa en los signos clínicos y raramente es exitoso después de que se han presentado éstos.

**Trichobezoars Gástricos:** También se les conoce como bolas de pelo, los trichobezoars gástricos son muy comunes en conejos. Están frecuentemente asociados con un hacinamiento excesivo, el cual puede resultar de aburrimiento. Esta condición debe de sospecharse cuando los animales dejan de comer o de beber y cuando no se encuentra material fecal en las charolas o éste es muy escaso. El tratamiento común incluye la administración de 10ml a 15 ml de aceite mineral, una pasta laxante y aprovisionamiento de fibra para favorecer el paso de la bola de pelo. La cirugía es una posibilidad para aquellos animales que tienen un valor científico en particular, si se realiza en la fase temprana de ésta condición. La muerte asociada a bolas de pelos usualmente se debe a la cetosis y a la degeneración grasa en el hígado, seguida de un curso prolongado de la enfermedad. Las bolas de pelo se previenen mejor si se proporciona a estos animales una adecuada cantidad de fibra en la dieta.

**Coccidiosis:** Esta es una enfermedad común en los conejos que se mantienen en condiciones convencionales, es la más común de las enfermedades intestinales. Varias especies de coccidias causan esta enfermedad. Ocasionalmente la infección hepática puede estar presente, estos casos son producidos por *Eimeria stiedae*. Son muy



pocos los signos clínicos; pobre ganancia de peso, excremento pegajoso y cambios de profuso a intermitente, diarrea y algunas veces diarrea sanguinolenta. Ocasionalmente las formas intestinales producen la muerte de los conejos jóvenes. La pérdida de peso, la diarrea y la apariencia encorvada son los únicos signos cuando se presenta la forma hepática. No existe tratamiento efectivo a pesar de que las sulfas ayudan a eliminar los signos de la enfermedad. Es más importante el prevenir la enfermedad, la prevención incluye buen manejo, el uso de jaulas suspendidas con piso de malla, el uso de bebederos automáticos y comederos tipo J y el sacrificio de los animales portadores.

#### FERROS

**Infección Respiratoria:** En los perros callejeros, la enfermedad más importante es una infección respiratoria severa y frecuentemente mortal. Los signos clínicos incluyen descarga nasal mucopurulenta, conjuntivitis, tos, disnea, depresión y anorexia. El virus del distemper canino está frecuentemente asociado con éste complejo, especialmente en los casos de infecciones mortales. Otro organismo aislado de perros enfermos incluye el virus de la parainfluenza canina, el adenovirus canino tipo 2 y *Mycoplasma cynos*. La frecuencia de la enfermedad respiratoria puede disminuirse si se vacuna a todos los animales que llegan al bioterio y que provienen de una fuente callejera. Estos animales deben ser vacunados contra el distemper canino, hepatitis infecciosa canina y virus de la parainfluenza canina.

**Tos de las Perreras:** Traqueobronquitis infecciosa o tos de las perreras, es una enfermedad semiligera y autolimitante; sin embargo, esta se puede diseminar rápidamente a los animales que se alojan en perreras cerradas. Los organismos asociados con este complejo incluyen *Bordetella bronchiseptica*, adenovirus canino, parainfluenza (SV-5) reovirus y herpes virus canino. Las bajas temperaturas y la alta humedad incrementan la susceptibilidad. Los signos clínicos primarios son tos seca y ronquera las cuales pueden ser exacerbadas si el animal es excitado. Aunque la enfermedad es considerada autolimitante, esta puede continuarse por 15-20 días. Los antibióticos pueden ayudar a controlar las infecciones bacterianas secundarias que frecuentemente ocurren con esta enfermedad; los expectorantes y los antitusígenos pueden ser útiles también. El evitar el estrés en los animales así como proporcionarles buenas medidas de higiene y de nutrición ayudan en su recuperación.

**Enteritis Parvoviral:** Esta es una enfermedad entérica aguda de los perros que tiene variaciones en morbilidad y en mortalidad. Se presenta en animales muy jóvenes y muy viejos. Los signos clínicos más comunes son depresión, deshidratación, inactividad, diarrea líquida y sanguinolenta y leucopenia. En los cachorros la temperatura corporal puede elevarse a rangos de 41°C. En los perros viejos la temperatura permanece normal o en ocasiones subnormal. El

tratamiento rápido e intensivo consiste en mantenimiento por fluidos, antibióticos y si es necesario atropina. Los animales enfermos deben de separarse. Una vacuna contra la enteritis parvoviral esta disponible y la inmunización es una práctica de manejo común.

Picadura de mosca: Los perros alojados en exteriores son susceptibles a picaduras o mordeduras de mosca, lo cual ocasiona una dermatitis del pabellón auricular. Esto puede observarse en animales callejeros que llegan al bioterio. El suero y la sangre emana de éstas mordeduras formando costras secas. Esta situación puede ser tratada con aplicaciones tópicas de un antibiótico. Repelentes químicos para moscas pueden evitar esta condición pero esto puede ocasionar variables indeseables al proyecto de investigación. El veterinario del bioterio y el investigador deben aprobar el uso de estas sustancias químicas. La mejor medida de prevención es alojar a los animales en lugares a prueba de moscas.

Otitis Externa: Este es otro problema común que se presenta en perros callejeros. Las causas son muy numerosas para mencionarlas todas, pero los ácaros del oído (*Otodectes cynotis*) son una causa frecuente e importante. Otras causas son traumatismos, excesiva resequedad, serumen, pelo, humedad, cuerpos extraños como depósitos de grasa, acumulación de bacterias y hongos. Los perros con orejas pendulantes parecen ser más afectados especialmente en climas húmedos y cálidos, pero ninguna raza de perros escapa totalmente a este problema. Los animales con otitis mueven la cabeza agitando las orejas, se rascan o frotan la oreja con el piso. Un excesivo sacudido de la cabeza ocasiona hematomas del pabellón auricular, especialmente en las razas con orejas pendulantes. El canal auditivo puede estar inflamado y ulcerado y puede contener una descarga de color oscuro, así como un olor molesto. En la otitis crónica el canal auditivo se observa engrosado. El cultivo y el antibiograma puede ayudar a diagnosticar cuales especies de bacterias están ocasionando el problema y cuales antibióticos pueden ser los mejores para sanar ésta condición. Sin embargo, no en todos los casos de otitis externa el tratamiento con antibióticos es exitoso. La limpieza del canal auditivo es muy importante. Este tipo de manejo remueve el ambiente en el cual las bacterias pueden proliferar. En los animales con orejas pendulantes se les pueden pegar hacia atrás para ayudarlos a evitar esta condición, esto permite que el aire entre al canal auditivo por lo que se promueve que se seque el ambiente dentro del canal.

Gusanos del Corazón: La *Dirofilaria immitis* es la causa de lombrices en el corazón, la cual es una condición endémica en muchas partes de los Estados Unidos y frecuentemente se observa donde hay mosquitos. Aproximadamente 4 meses después de que los perros son infectados las lombrices del corazón sexualmente maduras se pueden encontrar en el ventrículo derecho del corazón y en los vasos sanguíneos adyacentes, en donde estos parásitos producen

microfilarias, las cuales aparecen en la circulación general. Los animales infectados presentan pérdida gradual de peso, intolerancia a los ejercicios y tos excesiva después de los ejercicios. Algunos presentan disnea. La microfilaria de dirofilaria immitis debe diferenciarse de Dipetalonema reconditum, con el propósito de administrarse el tratamiento adecuado. Las microfilarias pueden identificarse en fresco a partir de frotis sanguíneos observados al microscopio o la prueba de Knott's o técnica miliporo. La administración diaria de diethylcarbamazine o la administración mensual de ivermectinas ayuda a evitar la enfermedad. El tratamiento de esta condición incluye que los parásitos adultos se destruyan con arsenicida, la cual desafortunadamente es potencialmente hepatotóxica y nefrotóxica. Este tratamiento debe ser seguido con terapia microfilarizada y medicación profiláctica para evitar la infección.

#### GATOS

**Desordenes Urinarios:** El síndrome urológico felino (complejo cistitis/cálculos/uretritis/cálculos urinarios) se caracteriza por una misión frecuente, hematuria, disuria y vocalización. Los gatos machos son más afectados que las hembras debido a que ellos tienen un diámetro más pequeño de la uretra la cual en el área del pene se obstruye fácilmente con moco y dentritos similares a cristales o arenas. La condición ocurre frecuentemente en climas fríos y en animales cuya dieta contiene más de 50% de materia seca. La orina alcalina y el estrés se piensa predisponen a los gatos a ésta situación. La necesidad de un tratamiento usualmente se presenta como una emergencia. El tratamiento de emergencia consiste en el vacío inmediato de la vejiga urinaria ya sea por cateterización o por punción percutánea con una aguja. La terapia de apoyo incluye el uso de acidificadores urinarios, suministro de magnesio en la dieta e incremento del consumo de agua por el animal añadiendo sal a la comida. En animales que decaen frecuentemente puede ser necesaria la cirugía.

**Otitis Externa:** Este problema puede presentarse con o en ausencia de ácaros de los oídos (*Notoedres cati*) que producen sacudimiento de la cabeza, rascado excesivo, que los animales se tallen las orejas ocasionando también abrasiones y sangrados. La causa específica únicamente puede determinarse a través del examen otoscópico. El canal auditivo puede estar inflamado y ulcerado. El tratamiento consiste en limpieza del canal auditivo poniendo aceite mineral con o sin parasitocidas. El tratamiento sistémico con ivermectinas ha mostrado también ser efectivo.

**Enfermedades Respiratorias del Gato:** El complejo respiratorio felino incluye varias enfermedades respiratorias de las vías altas que se caracterizan por estornudos, rinitis, conjuntivitis, salivación y ulceración oral. La rinotraqueítis viral felina (RVF) y el calicivirus felino (FCV), representan del 80% al 90% de las

infecciones respiratorias en los gatos. Los signos clínicos pueden ser exacerbados por la sobrepoblación así como por otras situaciones de estrés. El tratamiento es básicamente sintomático y de apoyo. Varias vacunas están disponibles comercialmente para prevenir ésta enfermedad.

**Bolas de pelo:** Los gatos que se acicalan excesivamente están predispuestos a presentar bolas de pelo. Estos animales pueden ocasionalmente presentar tos seca, seguida de vómito con pelos húmedos o mucosos. En la mayor parte de los casos las bolas de pelo pasan sin ningún problema. Únicamente en casos extremos llega a ocurrir bloqueo intestinal. El uso de pastas laxantes administradas dos a tres veces a la semana puede ayudar a solucionar este problema.

#### PRIMATES NO HUMANOS

**Tuberculosis:** Los monos del Viejo Mundo son muy susceptibles a la tuberculosis. Esta es ocasionada en la mayor parte de las veces por *Mycobacterium tuberculosis* o *M. bovis*, sin embargo también ocurren infecciones por *M. avium* así como por otros miembros atípicos de este grupo. La tuberculosis es menos frecuente en los primates del Nuevo Mundo, lo cual sugiere que ellos son mucho menos susceptibles que los monos del Viejo Mundo. La tuberculosis ocurre naturalmente en los primates no humanos pero rara vez en la vida silvestre. Esta usualmente se contrae de los humanos, ya sea que la adquieran en el país de origen o cuando una persona infectada tiene acceso a la colonia. La ruta más común de infección es la inhalación, pero la infección también puede ser intestinal o de origen cutáneo. La enfermedad progresa lentamente, cuando mucho un año entre el tiempo de infección y la muerte. Debido a su importancia en salud pública, el diagnóstico temprano es muy importante. Por ésta razón, los bioterios deben tener un programa de monitoreo cada cuatro meses utilizando tuberculina intradérmica. Debido a que la tuberculosis en los primates no humanos en raras ocasiones provocan depósitos del calcio como ocurre en los humanos, las radiografías no ayudan en el diagnóstico excepto en aquellos casos severos, avanzados y anérgicos. Los signos clínicos no son realmente aparentes hasta que la enfermedad alcanza etapas avanzadas. Las pérdidas de peso e indiferencia son los signos más comunes. Otros signos son diarrea, infección respiratoria (pneumonía) y ulceraciones de la piel con supuración de nódulos linfáticos regionales. El método más efectivo de control es la cuarentena, las pruebas con tuberculina y la eliminación de los reactores positivos. Debido a que ésta enfermedad es altamente zoonótica, se debe de utilizar gorro, cubrebocas y guantes cuando se realiza la necropsia de un animal sospechoso de tener tuberculosis.

**Sarampión:** Esta es una enfermedad viral común de los primates no humanos. Usualmente se debe al contacto con humanos infectados. Es por lo tanto de primordial importancia que el personal del bioterio

que trabaja con primates no humanos y que ha sido expuesto o potencialmente expuesto a alguien infectado con sarampión ya sea en la casa o en algún otro lugar, notifique a sus supervisores inmediatamente para que ellos puedan asignarlo a otro trabajo en el bioterio al menos temporalmente. Los signos clínicos de sarampión incluyen comezón en la piel, descargas nasales y oculares, conjuntivitis, edema facial, blefaritis (inflamación de los párpados) y ocasionalmente signos respiratorios (pneumonía). La enfermedad generalmente es benigna y requiere únicamente de cuidados de apoyo, aunque ocasionalmente puede ocurrir neumonía.

**Diarrea:** La diarrea es un problema frecuente y común en los primates que acaban de llegar. Las causas más comunes de diarrea incluyen salmonelosis, shigelosis, infestaciones por protozoarios e infección por campylobacter. Frecuentemente estos patógenos permanecen en forma latente hasta que el estrés precipita los signos de la enfermedad. Todos estos patógenos son zoonóticos.

Los signos clínicos asociados con *Shigella* o *Salmonella* sp. son similares, excepto que la última es una enfermedad menos aguda. Frecuentemente el único signo es la diarrea, la cual puede estar teñida con sangre. Otros signos incluyen depresión, deshidratación, emaciación y dolor abdominal (el animal se encorva). Ya sea tanto *Shigella* como *Salmonella* sp. pueden ser fácilmente aisladas por medios de cultivo. Para tener éxito consistente en el cultivo, las muestras no deben de secarse durante su transporte al laboratorio. La terapia incluye el tratamiento con antibióticos como el cloranfenicol o anticolinérgicos o drogas antisecretoras, como el Riosol-M o Lomotil, así como el reemplazo de fluidos y electrolitos.

Varios parásitos protozoarios incluyendo *Giardia* sp., *Balantidium coli* y *Entamoeba histolytica* se pueden encontrar en las muestras fecales de animales con diarrea. La patogenicidad de estos organismos no ha sido claramente establecida, pero parecen ser benéficos para el hospedador. Dependiendo de la políticas del bioterio los tratamientos varían desde no hacer nada hasta proporcionar tratamiento sintomático que alivie las molestias básicamente suministrando varios antiparasitarios.

**Heridas por Mordeduras:** Las heridas por mordeduras son un problema frecuente en animales que se alojan en grupos dentro de jaulas. Sin embargo, incluso cuando son los primates mantenidos en jaulas individuales, especialmente aquellos que tienden a sacar las manos y dedos a través de los barrotes de las jaulas o alrededor de las esquinas, frecuentemente son mordidos. En las colonias de reproducción las hembras pueden ser mordidas si ellas no se someten a los machos. Las heridas pueden ser extensas y en los casos de dedos y de manos, pies y cola pueden requerir su amputación. La administración de toxoide tetánico en estos animales está indicada. Algunos bioterios realizan modificaciones en el canal de la raíz de los dientes caninos de los machos de monos del Viejo Mundo, en un

esfuerzo para reducir la incidencia y la severidad de las heridas por mordeduras.

Virus Herpes B: Los monos del Viejo Mundo son portadores del virus herpes B. Esta enfermedad frecuentemente es asintomática en los monos rhesus, cynomolgus y otros miembros del género Macaca. Las lesiones orales o úlceras en los monos son un signo común de la infección por virus herpes B. Este virus debe ser considerado con especial atención para la gente que maneja primates no humanos, debido a que el herpes B es una enfermedad zoonótica que puede ser fatal para los humanos. La infección inicialmente ocurre a través de mordeduras. La atención médica inmediata por un médico capacitado es extremadamente importante cuando existe la posibilidad de este tipo de infección.

#### RUMIANTES

Fiebre Q: Esta es una enfermedad riketsial ocasionada por *Coxiella burnetii* la cual pasa a través de fluidos corporales como leche o fluido amniótico y a través de las membranas placentarias. Es transmitida por garrapatas y aerosoles del polvo proveniente de pasturas infectadas. A pesar de que esta enfermedad está principalmente asociada a las ovejas puede afectar a otras especies incluyendo el ganado bovino, cabras, perros y humanos. La importancia de esta enfermedad se debe a los logros de salud pública que aplican. En los humanos la fiebre Q puede ser tanto inaparente o producir únicamente signos ligeros que fácilmente pueden confundirse con síntomas de influenza. Sin embargo, muertes ocasionadas por endocarditis bacteriana han sido asociadas como consecuencia de infección con fiebre Q.

La fiebre Q usualmente se diagnostica por serología. Medidas especiales para prevenir la enfermedad no son necesarias siempre y cuando únicamente los animales machos utilizados en el rebaño si se alimentan con pastura se mantengan en ambientes abiertos. Las muestras de suero deben tomarse rutinariamente de aquellas personas que trabajan en estrecho contacto con las ovejas. Estas muestras deben de almacenarse para estudios serológicos que confirmen la enfermedad cuando se sospeche de un brote de fiebre Q.

Linfadenitis Caseosa: *Corynebacterium ovis* y *C. pseudotuberculosis* son las causas de linfadenitis caseosa en ovejas y cabras. Esta es una enfermedad crónica que se caracteriza por aumento del tamaño de los linfonodos regionales. Raramente es fatal. De hecho, la enfermedad puede ser detectada inicialmente solo durante estudios de necropsia. Los organismos penetran al cuerpo a través de abrasiones que recibió el animal durante su manejo o durante el corte de la cola y castración. Las infecciones oportunistas de la herida pueden reducir a través de la limpieza de los corrales así como de los instrumentos que son utilizados, especialmente si son utilizados para más de un animal. Se deben de limpiar energicamente las heridas y tratarlas con antibióticos

hasta que estas sanen completamente. Se puede vacunar exitosamente contra esta enfermedad.

**Pododermatitis:** La Necrobacilosis interdigital o pododermatitis es ocasionada por *Fusobacterium necrophorum* (antiguamente denominado *Sphaerophorus necrophorus*). Es una afección de la piel y tejidos blandos alrededor del espacio interdigital. Ocurre en el ganado bovino y ovino mantenido en pisos húmedos. La fractura del integumento corneal o piel de estos tejidos permite la penetración de los microorganismos. Una vez que se establecen los microorganismos invaden el tejido conectivo y producen necrosis. Los animales afectados usualmente cojean, pero no ocurre mortalidad. Para tratar a estos animales debe limpiarse vigorosamente el área, recortarse las pezuñas y administrar baños de pies y antibióticos.

### CABALLOS

**Cólico:** El cólico es un síndrome gastrointestinal agudo que se caracteriza por dolor abdominal severo. Una de las causas es la sobrealimentación con grano, lo que produce disturbios metabólicos y dilatación gástrica. Otra causa es alimentar en demasía con finos trozos de forraje, lo cual ocasiona impactación de la válvula ileocecal. La torsión, la estrangulación o intorsuceptión del intestino, la enteritis por la ingestión de tierra y la acumulación de gas producida por la ingestión excesiva de alimento verde, son también causas de cólico. Una forma aguda de cólico puede ocurrir ocasionalmente después de periodos de excitación o de actividades inusuales y de la ingestión de grandes cantidades de agua fría.

Los signos clínicos incluyen palidez de las membranas mucosas, pulso débil distensión abdominal (endurecimiento de la musculatura abdominal), resistencia al movimiento, resonancia en el abdomen, mirada hacia el flanco, posturas anormales (sentarse como perro), levantarse y agacharse repentinamente, producción de escaso excremento o ausencia de él, rodarse y sudoración profusa. El dolor de un animal afectado puede aliviarse por la administración de aceite mineral con un tubo gástrico o dándole sedantes como Xilacina, así como proporcionándole terapia de fluidos.

### CERDOS

**Enfermedad Vesicular del Cerdo (EVC):** En esta enfermedad, las vesículas aparecen en la boca y en la región coronaria del casco. Las cojeras pueden ser el único signo clínico. La enfermedad usualmente es autolimitante; esto es, cura sin ningún tratamiento. Esta condición es importante debido a su similitud con otras enfermedades vesiculares contagiosas como la fiebre aftosa. Las autoridades de salud veterinaria deben de ser notificadas siempre que ocurra una enfermedad vesicular.

**Rinitis Atrófica:** La rinitis atrófica se inicia como una inflamación del tracto respiratorio inferior. *Bordetella bronchiseptica* es un agente etiológico importante, pero

*Pasteurella multocida*, *Hemophilus* Sp. y otras bacterias se han asociado con la rinitis atrófica. El estrés debido a la sobrepoblación, ventilación inadecuada y pobre higiene predisponen a ésta enfermedad en los cerdos y a que se agrave si ya existía esta condición. La enfermedad es más severa en los animales jóvenes. La atrofia de los cornetes nasales y la distorsión del septo nasal algunas veces está acompañado por el acortamiento o desviación lateral de la trompa. Los signos más tempranos son estornudos y rinitis. Aunque poco se puede hacer una vez que el daño se ha presentado, la incidencia y la severidad de la rinitis puede reducirse proporcionando buena higiene, adecuada ventilación y una apropiada nutrición. La administración de sulfonamidas al alimento también ayuda a reducir la presencia de la severidad de ésta enfermedad. Existen bacterinas comercialmente disponibles.

**Hipertermia Maligna:** En años recientes la hipertermia maligna se ha encontrado en ciertas razas de cerdos, como la Poland China, Landrace, Pietrain y Yorkshire. Esta se caracteriza por rigidez muscular, hipertermia (fiebre), disritmia cardiaca y falla respiratoria que ocasiona la muerte. Esta enfermedad puede precipitarse por el uso de anestesia con halotane y relajantes musculares como la succinylcolina. Aunque no es un problema común, a veces resulta importante cuando se anestesian cerdos.

**Pneumonía Enzootica:** La enzootia viral o neumonía enzootica de los cerdos (*mycoplasma pneumoniae*) es una enfermedad crónica, ligera que afecta el aparato respiratorio. Es ocasionada por *Mycoplasma Hypopneumoniae*, el cual no es un virus, sin embargo, otros micoplasmas, bacterias y virus pueden complicar la enfermedad. Esta enfermedad tiende a ser endémica en los rebaños. La enfermedad ocasiona persistente tos seca; molestias respiratorias; y produce una alta incidencia de lesiones pulmonares, las cuales se detectan a la necropsia o en el rastreo. En los hatos enfermos los cerdos jóvenes se infectan usualmente al nacimiento. La incidencia de las lesiones pulmonares es mayor en los animales que tienen dos a cuatro meses de edad. En animales más viejos se desarrolla inmunidad lentamente de cuatro a cinco semanas y las lesiones regresan; los adultos se pueden recuperar completamente. Los macrolidos o las tetraciclina pueden ayudar a controlar las lesiones severas si se utilizan cuando las lesiones empiezan a aparecer en el hato.

#### RANAS

La pata roja es la enfermedad bacteriana que ocurre con mayor frecuencia en las ranas leopardo, especialmente después de que su medio ambiente ha sido drásticamente alterado, ya sea por aumento en las temperaturas, incremento en la densidad de población, cambios en la dieta o estrés debido al transporte. La pata roja esta usualmente asociada con la bacteria *Aeromonas hydrophila*. Esta es la única especie de bacteria que ha sido relacionada frecuentemente con mortalidad en gran escala en las ranas leopardo. Aunque *A. Hydrophila* puede ser aislada del excremento de animales



sanos. Los signos clínicos incluyen falta de movimiento; hemorragias cutáneas; erosión de los dedos de las patas, del pie y de la mandíbula. Las tetraciclinas son frecuentemente la droga de elección, si se administran por sonda gástrica a una dosis de 5mg/30g de peso corporal dos veces al día durante cinco a siete días. La adición de tetraciclinas directamente al agua en la cual los animales nadan es efectiva debido a que la droga no se absorbe a través de la piel.

## UNIDAD 6

### TECNICAS EXPERIMENTALES

Los programas de cuidados veterinarios para los animales de laboratorio, deben considerar las especies y la cepa, así como también el carácter y la edad de los animales. Estos factores y el cuidado de los animales, requieren ser considerados cuando se desarrollen protocolos de investigación experimental. Para ello se requiere de un conocimiento especializado de la metodología de la investigación científica a que se someterá el estudio, así como de sus procesos complejos de análisis estadístico. El tecnólogo debe interactuar con personas que están sumamente entrenadas en medicina, medicina veterinaria, metodología de la investigación científica y estadística. La información que se cubre en esta unidad no es el medio para proporcionar al tecnólogo los conocimientos para que desarrolle investigación experimental o protocolos veterinarios. Preferentemente, las drogas y sus dosificaciones, las técnicas y los programas de tratamiento que se discuten en esta unidad son ilustrativas, para ayudar al tecnólogo a tomar un papel de participación activa en la planeación del proceso experimental.

### CAPITULO DIECIOCHO

#### ANESTESIA

En los programas de investigación que utilizan animales de laboratorio, el veterinario en colaboración con el investigador decide cual es la droga que se utilizará para la anestesia o la analgesia. En la selección sin embargo también se considera al tecnólogo, el cual por su experiencia en la asistencia de los servicios de cirugía o en otros protocolos, puede tener una opinión. Por lo tanto el tecnólogo tiene que conocer cuales son las drogas disponibles y cuales son las indicaciones, efectos secundarios y las reacciones de las especies a estas drogas.

#### CALCULO DE LA DOSIS

Las tablas 13.1, 13.2 y 13.3 que aparecen al final de este capítulo, proporcionan guías para la selección de la droga apropiada para la analgesia o anestesia. Las drogas están listas de principio de acuerdo a la especie, después por el nombre de la droga. La dosificación que selecciona el equipo de investigación depende primero de los efectos deseados, ya sea ésta sedación, analgesia o anestesia, después con base en la ruta de administración. El efecto más rápido es producido por la ruta intravenosa; sin embargo, el efecto tiene corta duración en comparación con el efecto producido por otras rutas. Las rutas intraperitoneal e intramuscular son aproximadamente igual de rápidas en absorción y duración del efecto. La ruta oral para anestesia o para analgesia es raramente satisfactoria cuando se utiliza en procesos experimentales.

Notese que en la tabla 13.1 se proporciona un rango de dosis de

la mayor parte de las drogas y que la dosis alta en rango puede ser tres o cuatro veces que la dosis baja. La dosis para cada individuo debe ser analizada cuidadosamente por el veterinario y el tecnólogo. La selección de la dosis depende de la edad del animal, porcentaje de grasa en el cuerpo, cepa o raza y condición. Lo más deseable es dar anestesia "a efecto", pero esto obviamente no se puede hacer cuando son utilizadas las rutas intraperitoneal o intramuscular. En estos casos puede ser necesario el aproximar una dosis a través de diferentes ensayos o previas experiencias con la especie o el tipo de animal. Las dosis para analgesia son mucho más difíciles de determinar. La observación de la conducta de los animales proporciona claves para determinar si los animales están sufriendo o no y si la droga realmente esta aliviando el dolor. Para hacer este juicio es necesario asumir que las condiciones que causan dolor a los humanos son también dolorosas para los animales.

Una vez que se ha determinado la dosis correcta, se debe preparar adecuadamente. Las dosis para todas las especies se muestran en la tabla 18.1 y son proporcionadas en miligramos por kilogramo de peso corporal (mg/kg). Para animales del tamaño de los conejos o mayores, este rango de dosis es satisfactorio. Dado que el rango de peso para los ratones, ratas pequeñas y otros roedores es substancialmente menor que el de los conejos, la dosis debe ser convertida de mg/kg a mg/g para aplicarla con seguridad y exactitud a estas especies. Dado que los gramos son en términos de magnitud tres veces más pequeñas que los kilogramos (1000g = 1kg), la conversión se puede realizar dividiendo la cantidad de droga mostrada en la tabla 18.1 entre 1000 para llegar a una dosis equivalente en mg/g. Por ejemplo, la tabla 18.1 indica que 40-80mg/kg IP de pentobarbital se requieren para anestesiarse a un ratón. Para encontrar la dosis equivalente por gramo de peso corporal, 40 y 80 son cada uno divididos entre 1000. Entonces, la dosis correcta para un ratón debe de ser 0.04-0.08 mg/g.

Para medir la dosis deseada con exactitud en los animales pequeños, puede ser necesario diluir la preparación comercial de la droga. La solución de pentobarbital, por ejemplo está disponible comercialmente a una concentración de 65mg/ml. Si una dosis de 60mg/kg fue seleccionada para ratones, dividiendo la dosis entre 1000 una dosis equivalente de 0.06mg/g. A 30g de ratón requerirán 1.8mg de pentobarbital (0.06 x 30). Para encontrar la cantidad requerida para una solución estándar, una proporción igual se prepara, dividiendo la dosis requerida entre la concentración estándar de la solución, como se muestra a continuación.

$$\begin{array}{r} 65\text{mg} \\ \hline \text{ml} \end{array} = \frac{1.8\text{mg}}{\text{? ml}}$$

$$\text{? ml} \times 65 = 1.8 \text{ mg}$$

$$\text{? ml} = \frac{1.8}{65}$$

? = 0.028 ml de 65mg/ml de solución

Diluyendo una parte de la solución original de pentobarbital con 9 partes de agua, la concentración se transforma en 6.5mg/ml. De esta dilución la dosis final sería 0.28ml de solución más que 0.028ml de solución no diluida. Con una jeringa de tuberculina 0.28ml puede ser medido con exactitud.

Para las ratas, hamsters y cobayos una dosis exacta en miligramos por cada 100 gramos de peso corporal puede ser preparada. Las dosis proporcionadas en la tabla 18.1 se dividen entre 10 para determinar la dosis equivalente en mg/100g.

#### VALORACION DE LA ANESTESIA GENERAL

Los siguientes signos pueden mantenerse en mente cuando se valora a los animales anestesiados:

**Patrón Respiratorio:** El patrón respiratorio incluye no únicamente el número de respiraciones por minuto, sino también su profundidad y las características de respiración del animal. Superficial; la respiración es torácica y se caracteriza generalmente en las etapas de anestesia ligera. Con una mayor profundidad de las respiraciones también tienden a ser más profundas, esto es más abdominales. La anestesia quirúrgica se caracteriza por una respiración regular. La respiración irregular puede indicar que el animal se está recobrando de la anestesia o que esta siendo demasiado profunda.

Los animales que son conectados a una máquina anestésica pueden valorarse a través de la observación de las válvulas y de la bolsa de respiración. La distensión de la bolsa de respiración indica el volumen tidal aproximado. Un dispositivo de valoración simple, colocado en las vías aéreas del animal, produce una señal audible en cada respiración. Los patrones de respiración del animal pueden determinarse a través de la observación continua de los movimientos del pecho.

**Color de las Membranas Mucosas:** Si un animal normal esta recibiendo suficiente oxígeno durante la anestesia, sus membranas mucosas permanecen rosadas. Esto puede evaluarse en la mayor parte de los animales observando los límites de la boca o las aperturas rectales o vulvares. Una coloración azulosa (cianosis) indica que los animales no están obteniendo suficiente oxígeno y las vías aéreas deben ser revisadas inmediatamente para observar lo que está sucediendo.

**Tiempo de llenado Capilar:** El tiempo de llenado capilar es el tiempo que toman los capilares en rellenarse con sangre (regreso al color rosado), después de su liberación de una presión física que los mantuvo vacíos. Por ejemplo, la presión con un dedo en la encía del animal, liberando ésta y anotando cuanto tiempo tomó en que regresaran a su color rosado estas encías, nos indica el trabajo cardíaco. Un llenado capilar normal para la mayor parte de los animales de laboratorio es de menos de dos segundos. Si el llenado capilar requiere de más tiempo esto es sugerente de una depresión de la actividad cardíaca. Estos parámetros deben de ser revisados

frecuentemente sobre animales normales sin anestesia con el objeto de adquirir el juicio necesario para evaluar al paciente.

**Pulso:** La toma del pulso en la mayor parte de las especies se realiza a través de la palpación de la arteria femoral sobre su superficie media en la pierna o pata posterior. En los animales grandes la arteria mandibular es el sitio de palpación. En los animales roedores pequeños el corazón se palpa directamente. La experiencia permitirá al técnico aprender a evaluar la fuerza y las características del pulso como un medio para valorar la respuesta del animal a su actividad cardiovascular. Al igual que con la respiración un dispositivo para observar el pulso del animal puede utilizarse cuando este se encuentra anestesiado.

**Presión sanguínea:** La valoración de la continuidad de la presión sanguínea proporciona información adicional sobre la actividad cardíaca. La presión sanguínea puede ser monitoreada o valorada por medio de detectores de flujo ultrasónico Doppler. Estos dispositivos usualmente emplean un collar que es colocado alrededor de la cola o pata del animal. El collar está conectado eléctricamente a un monitor en el cual se puede observar la actividad en una pantalla.

**Temperatura Corporal:** La anestesia quirúrgica paraliza los centros regulatorios de calor del cerebro, lo que resulta en una caída de la temperatura del paciente. Entre más baje la temperatura, es más baja la capacidad del paciente para metabolizar drogas. Por lo tanto a una temperatura más baja será más lenta la recuperación del animal de la anestesia. La pérdida de calor del animal puede ser reducida durante la anestesia cubriendo a este con dispositivos aislantes, una bolsa con agua caliente o con un colchón térmico. La temperatura corporal del animal debe valorarse continuamente utilizando termómetros electrónicos u otro dispositivo que permita su determinación.

**Ojos:** Los ojos de un animal anestesiado proporcionan una ventana del estado de anestesia para un tecnólogo observador. Por ejemplo, el nistagmus es el movimiento de oscilación de los ojos característico de anestesia ligera en algunas especies. El tamaño de las pupilas puede ser importante. Después de dilatarse en las etapas de excitación, las pupilas se contraen dependiendo hacia el plano de anestesia en el cual las cirugías pueden realizarse. Pero, si la anestesia se hace más profunda la dilatación de las pupilas aumenta. La dilatación extrema de las pupilas es una señal inminente de muerte. El reflejo palpebral puede observarse con un ligero toque del canto medial del ojo o justo sobre los párpados. Este reflejo no debe sobrevalorarse debido a que la respuesta será menor cuando el animal se acomode. El reflejo corneal persiste después que el reflejo palpebral se ha perdido. Se puede evitar que la cornea se dañe utilizando no más que el toque de la luz sobre la superficie.

**Tono Muscular:** La palpación de cualquier tejido muscular esquelético indica el tono muscular. Cuando se utiliza una máquina de anestesia es fácil la evaluación del tono de los músculos de la mandíbula. Sin embargo, cuando la anestesia es más profunda los músculos se hacen más flácidos y con agentes catalépticos como la ketamina los músculos se ponen tensos. Entonces, el tono muscular no puede ser indicador exacto del estado de anestesia.

**Reflejos:** Los reflejos que más frecuentemente se evalúan son el pedal y anal. El reflejo pedal puede evidenciarse pinchando los dedos del animal o presionando en el espacio entre los dedos. Un incremento en el tono muscular de los músculos flexores es suficiente para indicar una respuesta. El reflejo anal se puede manifestar pinchando suavemente el tejido anal, la respuesta se observa al ver el cierre del esfínter. Estos dos reflejos están presentes durante los planos quirúrgicos pero comienzan a desaparecer cuando se alcanzan niveles más allá del plano quirúrgico de anestesia.

En los animales que se están recobrando de la anestesia es importante valorar el reflejo laríngeo como un indicador de cuando extubar. Este reflejo puede ponerse de manifiesto moviendo ligeramente el tubo endotraqueal. Cuando el animal empieza a mostrar signos de tragar es el momento de retirar el tubo.

#### **PREANESTESICOS**

Los tranquilizantes, analgésicos y anticolinérgicos frecuentemente se administran antes de suministrar el anestésico; estas drogas son denominadas preanestésicos. Los tranquilizantes reducen la aprensión del animal, con lo cual se hace más fácil inmovilizarlo para la inyección intravenosa. Los preanestésicos, así como los tranquilizantes y los analgésicos ayudan a inducir la anestesia más suavemente, dado de que reducen o eliminan la etapa de excitación. Los narcóticos y los tranquilizantes que se administran como preanestésicos también reducen la cantidad general de anestesia que se requiere y por lo tanto el margen de seguridad. La única desventaja del uso de estas drogas es que ellas enmascaran las etapas y los planos de anestesia, haciendo más difícil la determinación del estado del paciente. Los anticolinérgicos, como la atropina, reducen las secreciones e inhiben el efecto de la estimulación vagal.

Algunos de los preanestésicos comúnmente utilizados son:

**Atropina:** Esta droga es un anticolinérgico; esto es, bloquea los sitios efectores de la acetil-colina, por lo que ayuda a contrarrestar los efectos del anestésico. El sitio más evidente de acción es el iris, las glándulas de secreción y el corazón. La atropina previene la secreción excesiva de las glándulas salivales y de las glándulas que se encuentran en las vías respiratorias anteriores. También bloquea la estimulación vagal inhibitoria del corazón (bradicardia vagal), la cual puede ser activada a través de

la manipulación de los ojos, la laringe u órganos internos. Aunque la atropina puede combinarse con otras drogas por las razones mencionadas anteriormente, es importante hacer notar que esta no es un analgésico o un sedante. En algunos animales, especialmente los gatos, la atropina produce la producción de moco traqueal grueso el cual puede atorar la sonda endotraqueal.

**Derivados Fenotiazínicos:** Algunas de las drogas más comúnmente utilizadas son la promazina, acetilpromazina y triflupromazina. La mayoría de estas drogas ocasionan o producen una acción similar, con escasas diferencias entre ellas. Su efecto primario es actuar como neuroléptico; esto es, ellas reducen la ansiedad y producen relajación muscular. Como resultado de esto, los nervios del animal son más fácilmente manejables. Todas las fenotiazinas tienen un amplio margen de seguridad, baja toxicidad y efectos predecibles. No son analgésicos y no deben ser utilizados para este propósito. Sus efectos son acumulables cuando se combinan con narcóticos y anestésicos. Son compatibles con la atropina y pueden incluso mezclarse en la misma jeringa. Aunque las fenotiazinas pueden administrarse IV o SC, ellas normalmente se proporcionan por vía IM. La acción total se alcanza entre 5 y 10 minutos de la inyección IM y entre 15 a 30 minutos después de la inyección SC.

**Xilazina:** A diferencia de otros tranquilizantes, la xilazina es un potente analgésico. En altas dosis produce un breve período de anestesia de 30 min. seguida por dos o tres horas de analgesia y sedación. Debido a que la xilazina tiende a reducir la presión sanguínea y el tono muscular, frecuentemente se administra en combinación con ketamina, la cual reduce en forma importante estos efectos. La combinación también proporciona una anestesia más completa que utilizando las drogas por separado. La xilazina usualmente se administra IM, aunque puede ser administrada lentamente por vía IV si la dosis apropiada se reduce.

#### **ANESTESICOS INYECTABLES**

**Pentobarbital:** Esta droga es ampliamente utilizada para anestesiarse animales debido a su fácil administración y bajo costo. Es una droga de acción corta la cual administrada intravenosamente como un anestésico, produce una rápida pérdida de conciencia. Sus efectos duran de una hora a tres horas. Debido a que la profundidad de la anestesia es dosis dependiente, el pentobarbital se debe de administrar a efecto. La cantidad es calculada de acuerdo al esquema de dosificación y ésta es introducida en una jeringa, después de que se ha puncionado la vena la mitad de la dosis calculada se inyecta rápidamente; esto hace que el animal pase rápidamente la fase de excitación. Una vez administrada la primer mitad de la droga y cuando el animal comienza a estabilizarse, la cantidad restante se inyecta lentamente hasta que se alcanza el plano de anestesia deseado. Para procedimientos largos se pueden administrar dosis adicionales de pentobarbital a través de un catéter endovenoso.

Los efectos del pentobarbital no son reversibles; esto es, no existe un antagonista específico de la droga. Esto significa que una vez administrada, no hay manera de revertir su acción sino esperar a que la droga sea metabolizada a nivel hepático. Si se administra una sobredosis, la muerte se produce por paro respiratorio seguido de paro cardíaco.

A pesar de su amplio uso como anestésico, el pentobarbital tiene una reducida acción analgésica a menos que el animal este profundamente anestesiado. Esta limitante puede corregirse utilizando un analgésico como la morfina o mepiridina como preanestésico. La recuperación de la anestesia con pentobarbital es relativamente larga y frecuentemente se asocia con malestar y emisión de sonidos.

Algunas personas pueden llegar a confundir fenobarbital con pentobarbital debido a la similitud de sus nombres. El fenobarbital, el cual es una droga de larga acción normalmente no es utilizado como anestesia. Los técnicos deben estar alertas para los casos en los que alguna persona planea el uso de fenobarbital como anestésico.

Tiamilal: esta es una droga que junto con el tiopental y el metohexital son clasificados como tiobarbituratos de ultra corta acción. Usualmente se les administra por vía intravenosa. Su acción dura cerca de 15min. con un periodo de recuperación de una hora. Son adecuados para procedimientos cortos o para la inducción en el caso de utilizar anestesia inhalada. Cantidades adicionales de estos anestésicos prolongan el tiempo de recuperación. Sus efectos farmacológicos son similares a los del pentobarbital. El tiaminal usualmente se suministra estéril, como un polvo premedido. Este se disuelve en agua, usualmente a una concentración de 2.5 a 5%. La dilución de la droga es estable por dos a cuatro semanas si se le refrigera. Cuando la solución comienza a precipitarse es el momento de desecharla.

Hidrato de Cloral: Esta es una droga hipnótica con debiles propiedades analgésicas. Debido a esto debe ser administrada en grandes cantidades, lo cual tiende a deprimir los centros respiratorios y cardiovasculares en el cerebro, no se recomienda su uso para anestesia quirúrgica. La droga se utiliza más frecuentemente como un sedante hipnótico para lograr una narcosis basal. La duración de su efecto es de una a dos horas.

Alfa-Cloralosa: Esta es una droga que se utiliza como anestésico en experimentos de fisiología debido a que no deprime el centro respiratorio del cerebro o el sistema nervioso autónomo, a menos que grandes cantidades sean administradas. La droga requiere de mucho tiempo para que haga efecto y tiene pobres propiedades analgésicas. Por lo tanto, la inducción inicial usualmente requiere que se administre una droga de corta acción primero. Su uso es cuestionable excepto como sedante.



Uretano (Etil Carbonato): esta es una droga que produce anestesia que dura de ocho a diez horas. Existen algunas evidencias de que la droga es carcinogénica; y su uso ha sido asociado con un incremento en la incidencia de tumores en el pulmón y en el hígado de los animales de laboratorio. Por lo tanto es mucho más útil en experimentos de tipo terminal, es decir en donde el animal no se recuperará después del procedimiento.

Tricano Metanosulfonato (MS-222): Esta es una droga soluble en agua que es útil para anestesiarse peces y anfibios. A pesar de que produce niveles satisfactorios de anestesia, las soluciones de la droga son ácidas y pueden estresar a los animales cuando se les sumerge en ellas.

Fentanyl/Droperidol: Innovar-vet es la marca registrada de esta droga que es en realidad una combinación. Contiene 0.4mg/ml de fentanyl, un opiáceo y 20mg/ml de droperidol, un tranquilizante. La droga proporciona una excelente analgesia y una buena sedación pero produce depresión de los centros respiratorios y cardíacos del cerebro. Los animales bajo la influencia de esta droga usualmente responden a estímulos auditivos. Es una sustancia adecuada para procedimientos menores de poco dolor, pero no debe ser utilizada para cirugías.

Ketamina: La acción de la ketamina difiere de la de otros anestésicos considerados en este texto. Esta produce una anestesia disociativa. Este es un estado caracterizado por un excesivo tono muscular o catalepsia. Tiene efecto analgésico en la mayor parte del cuerpo pero no en las vísceras y es por lo tanto poco recomendable para cirugía abdominal. La depresión respiratoria es muy baja. Produce salivación profusa pero este efecto puede ser evitado si se premedica al animal con atropina. A diferencia de la mayoría de los anestésicos, la ketamina estimula la acción cardíaca, con lo cual se eleva la presión sanguínea. La droga comúnmente se administra por vía intramuscular. Después de la inyección intramuscular el efecto total ocurre en cinco minutos y la anestesia dura de 30 a 60 minutos. Los cambios de conducta postanestésicos como depresión de la actitud pueden durar hasta 24hrs.

Además de producir rigidez muscular, la ketamina utilizada sola algunas veces ocasiona convulsiones. Para proporcionar relajación muscular y evitar convulsiones, esta droga debe ser utilizada en combinación con un tranquilizante. La fenotiazina y la xilazina han sido recomendadas para estos propósitos. La acción anestésica y analgésica de la xilazina y la ketamina son sumatorias, lo cual permite el uso de una reducción en la dosis de cada una de ellas. Esto incrementa los márgenes de seguridad de la droga. En combinación las desventajas de la xilazina (reducción de la presión sanguínea) y de la ketamina (rigidez muscular) tienden a bloquear un efecto con el otro.

## SISTEMAS DE ANESTESIA INHALADA

La anestesia inhalada es ampliamente utilizada debido a su baja dosificación y rápidos cambios que permiten ajustar los niveles de la anestesia. Estas drogas son líquidas que son administradas como vapores o gases a temperatura ambiente. Los gases entran al sistema circulatorio del animal a través del pulmón y ejercen su efecto sobre el sistema nervioso central. A diferencia de los anestésicos inyectables, los cuales deben ser metabolizados y excretados por el hígado y los riñones, los anestésicos inhalados pasan al exterior del cuerpo a través de los pulmones prácticamente sin ningún cambio químico. Los niveles de anestesia son proporcionales a la cantidad de anestésico que existe en la corriente sanguínea, lo cual es proporcional a la cantidad administrada en los pulmones. Entonces, la profundidad de la anestesia puede aumentarse o disminuirse rápidamente variando la cantidad del gas anestésico que se proporciona al animal.

Un número de requisitos deben de llenarse para administrar en forma segura los anestésicos inhalados. La suficiente concentración de los vapores de anestesia debe de proporcionarse a los pulmones del paciente a través de los niveles deseados de anestesia. Así mismo debe de administrarse suficiente oxígeno para mantener las necesidades metabólicas del paciente y simultáneamente, eliminar el bióxido de carbono de los pulmones. Debe de controlarse la liberación de gases y removerse estos con el propósito de evitar que sean peligrosos para el personal. Varios tipos de sistema de administración de anestésicos pueden llenar estos requisitos.

### Cámaras y Sistemas de Goteo Abierto

El aparato más simple para la administración de anestesia inhalada es una cámara de plástico o cubierta de cristal en la cual los roedores y otros animales son colocados. La cámara contiene un piso falso perforado y por debajo del cual se encuentran algodones embebidos con la sustancia anestésica. Después el animal se coloca en la cámara y se le cubre con una tapa. El proceso de anestesia puede observarse a través del cristal. Cuando el animal alcanza la profundidad apropiada de anestesia determinada por la observación, entonces se le retira de la cámara. Una vez que la anestesia ha sido inducida en el animal, ésta puede mantenerse o continuarse utilizando un método de goteo abierto. Esto significa administrar gotas del anestésico poco a poco a través de un cono que ha sido colocado en la nariz del animal. El cono contiene un algodón u otro material absorbente que retiene anestesia y debe ser lo suficientemente poroso para permitir que el animal pueda respirar libremente a través de él. El cono puede estar hecho de plástico o puede ser por ejemplo el casquillo de una jeringa. El proceso debe realizarse bajo una campana de extracción para evitar que el personal inhale los gases anestésicos. A pesar de estas limitaciones la técnica puede ser útil para breves periodos de anestesia que puedan ser realizados dentro de una pequeña cámara de

extracción de vapores o gases. El método de la cámara también es adecuado para inducir anestesia en gatos y otros animales que pesan menos de 5kg y que puede dificultarse el inmovilizarlos para una inyección intravenosa. Después de que este tipo de animales ha sido inducido a través de la cámara, deberán ser entubados y colocados en un sistema como a continuación se describe. La cámara o el método del goteo abierto no debe ser utilizado fuera de una campana de extracción o sin alguna unidad que prevenga la salida o escape de los gases anestésicos.

#### Sistemas de Reinhalación

Existe disponible en el mercado una gran variedad de sistemas de reinhalación para animales de diferentes tamaños y con diferentes tipos de anestésicos. Un sistema de reinhalación utiliza un circuito de tubos flexibles, en los cuales el animal reInhala una porción de los gases exhalados. Un sistema de reinhalación tiene un número importante de partes que el técnico debe comprender, con el objeto de utilizar con seguridad este equipo (Fig. 18.1).

**Vaporizador:** Se requiere un vaporizador para utilizar equipo de anestesia inhalada, con el cual se pueden tener grandes ventajas. El vaporizador contiene el líquido anestésico al que convierte en vapor y lo entrega al circuito. En la mayoría de los vaporizadores el porcentaje de anestésico vaporizado se entrega al animal bajo control, sin embargo, la mayoría de los vaporizadores están diseñados para llenar las características de presión de vapor de un solo tipo de anestésico. Por lo tanto, el vaporizador debe de utilizarse únicamente con el tipo de anestésico para el cual ha sido diseñado.

En un circuito cerrado los vaporizadores pueden ser de dos tipos. La respiración del paciente ocasiona los movimientos de los gases en el tipo de circuito cerrado. El tipo de "Wick" es el más común de los circuitos cerrados. Esta hecho de cristal para que el material débil y el anestésico puedan observarse. Este tipo de vaporizadores no se pueden calibrar con exactitud, por lo tanto se desconoce la cantidad exacta de anestésico que se esta dando. Los números sobre el dial de este dispositivo no indican la concentración del gas, pero dan únicamente una indicación de que tan abierta esta la válvula de salida. En un vaporizador de este tipo, el metoxifluorano es el único anestésico adecuado para su uso debido a la baja presión de estos vapores. La temperatura normal y el flujo del gas a su máxima concentración de metoxifluorano, puede producirse en un vaporizador débil y es cerca del 3%, lo cual usualmente no es letal. El halothane u otros vapores anestésicos que produzcan vapores de alta presión nunca deben ser utilizados en un vaporizador "Wick", debido a que estos gases alcanzan la concentración letal más rápidamente en estos tipos de dispositivos.

Existen dos tipos generales de vaporizadores para circuitos abiertos. El tipo más antiguo es llamado vaporizador de burbuja, en el cual el tipo de tetera de cobre es el tipo más común. Estos vaporizadores, frecuentemente son usados a los bioterios o

laboratorios que utilizan animales, después de que han sido reemplazados en las áreas quirúrgicas de humanos por equipo más moderno. Son un poco complicados de utilizar debido a que parte de el total de oxígeno es enviado a través del vaporizador. La cantidad de anestésico que se mezcla con el oxígeno varía con la temperatura. La concentración de los vapores anestésicos puede determinarse por graficación de la proporción del total de gas que pasa a través del vaporizador a una temperatura determinada. Estos vaporizadores son prácticamente indestructibles y requieren de muy poco mantenimiento.

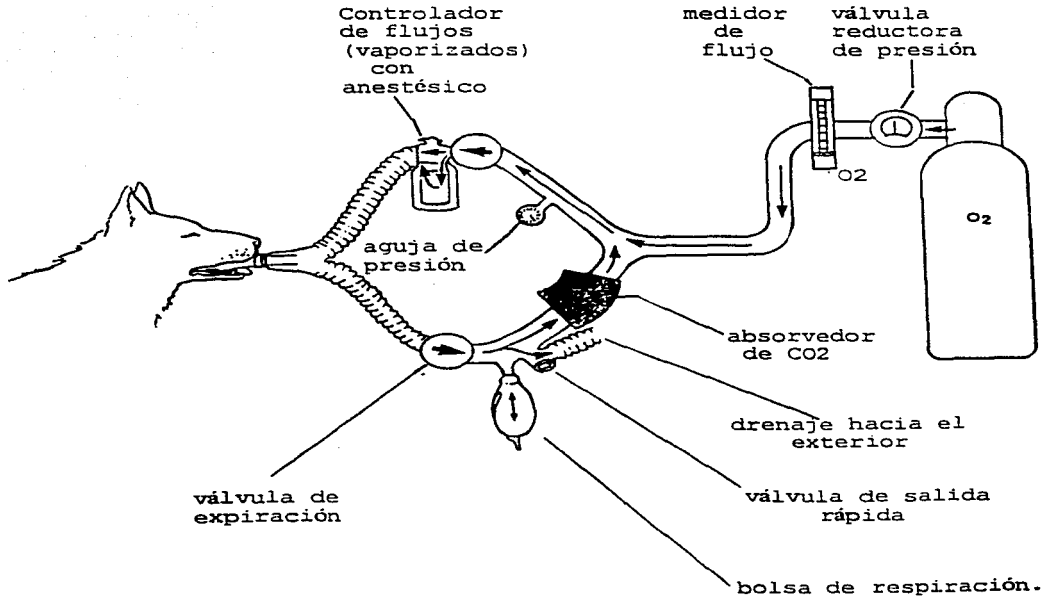


Figura 18.1 Máquina de reinhalación de gases con un controlador de flujos (Wick). Este sistema es utilizado para animales del tamaño de un perro y mayores y este tipo de vaporizadores es mejor cuando se utiliza con metoxano. Con este tipo de máquina, los anestésicos son parcialmente reciclados durante cada expiración.

Estos vaporizadores deben ser calibrados con precisión compensando las variaciones de temperatura. Para usar estos vaporizadores, la concentración de vapor deseada se selecciona simplemente rotando el dial. Este tipo de vaporizadores debe de presentar servicios regulares debido a que residuos pegajosos se acumulan dentro de él. Considerando un uso normal la precisión del vaporizador debe de presentar servicio una vez al año.

Canister o Removedor de Bióxido de Carbono: La cantidad de bióxido de carbono que es exhalado como gas, debe de removerse o retirarse para evitar que el paciente lo reinhale. Esto se realiza pasando los gases expirados a través de un recipiente o canister que contiene cristales de sodio los cuales remueven el dióxido de carbono. Dentro del canister los gases pasan a través de hidróxido de calcio o cristales de hidróxido de bario finamente divididos (soda). Únicamente la soda preparada específicamente para propósitos médicos puede ser utilizada. La soda absorbe el dióxido de carbono y pasa a través del canister. Cuando la capacidad de absorción del canister disminuye, el indicador químico de la soda se torna a un color azuloso. Esto resulta de la reducción del pH, lo cual ocurre gradualmente, conforme los hidroxidos de la soda son neutralizados. Una vez que se ha mostrado el color, la soda debe de ser cambiada, incluso si el color desaparece mientras la máquina de reinhalación no esta siendo utilizada. Un derivado de la absorción del dióxido de carbono en el canister es el agua. Por lo tanto, si la máquina de anestesia es utilizada poco, la soda del canister debe de ser vaciada entre uso y uso para reducir la corrosión. El casquillo que cierra el canister con la soda puede tener fugas si no es reemplazado cuidadosamente. El sello debe ser revisado rutinariamente para evitar fugas de gas antes y después de que se rellena el canister.

Oxígeno Comprimido: Este es un gas importante que se suministra en cilindros de metal de varios tamaños. Los tanques de oxígeno y todos los aditamentos relacionados con el transporte de oxígeno se pintan de color verde para distinguirlos de los de otros gases (azul para el oxido nitroso y café para el dióxido de carbono). La llave a la cual el tanque de oxígeno está unido tiene conectada una aguja de presión. Si el tanque de oxígeno esta lleno la aguja de presión usualmente indicará una presión de 2200 p.s.i. (libras por pulgada cuadrada), lo cual es la presión estándar de un tanque lleno. Conforme el gas se utiliza, la presión gradualmente disminuye. Entonces, la lectura de la presión sobre el tanque es una aproximación de la cantidad de gas que resta. Antes de que el oxígeno sea utilizado para los propósitos de anestesia pasa a través de un regulador de presión el cual hace ajustes para reducir la presión a 50 p.s.i. Con máquinas de anestesia portátiles, las cuales usualmente utilizan tanques E, tanto la aguja de presión y el dispositivo regulador para el tanque deben estar reunidos para una conexión simple. Bioterios con gas central con tubería de gas central o calefacción central usualmente necesitan de tanques de

tamaño G o H. El tecnólogo a cargo de la operación del cuarto debe mantener registros fidedignos del gas utilizando para asegurar que se suministre el oxígeno siempre que sea necesario.

La cantidad de oxígeno que entra al sistema es controlado por el medidor de flujo, el cual indica los litros por minuto. Cerrando el medidor de flujo no siempre se detiene completamente la salida del gas y esto puede resultar o puede ocasionar que el tanque de oxígeno se vacíe para la próxima vez que se utilice la máquina. Por lo tanto, cuando el oxígeno no es utilizado este debe de cerrarse desde su fuente.

**Entubación:** Los componentes del sistema están conectados en conjunto por medio de tubos de goma flexibles hacia el circuito de respiración. Una pieza de Y está unida al tubo endotraqueal del paciente; una ramificación de la función de la Y para cuando ocurre la inhalación y otra se encuentra en el extremo de exhalación. Revisar las válvulas de cada lado asegura que el flujo sea unidireccional.

**Bolsa de Respiración:** Una bolsa de respiración se coloca en el circuito, para acomodar los cambios en volumen que se realizan durante la respiración. La bolsa de respiración también puede ser utilizada para una ventilación de presión positiva y resucitación a través de la compresión manual de la bolsa. El tamaño de la bolsa varía con el tamaño del paciente. El volumen de la bolsa debe ser aproximadamente seis veces más que el volumen tidal del paciente.

**Válvula de Liberación de Presión:** A esto frecuentemente se le refiere como la válvula de salida. Su función es liberar el exceso de gases del sistema. Y debe de mantenerse con el mínimo de equipo necesario para que la bolsa de respiración se insufle. Para utilizar la ventilación con presión positiva la válvula de salida rápida debe de evitar el escape de gases. Si el sistema tiene un manómetro de presión calibrado en pulgadas de agua, entonces puede utilizarse para controlar la válvula de salida rápida.

**Sistema de Desechos:** Un incremento en la preocupación sobre los efectos de los desechos de los gases anestésicos (WAG), han hecho obligatorio el sistema de desechos para todos los sistemas de anestesia inhalada. El mejor sistema de desechos es el de la expiración de desechos del gas anestésico directamente hacia el exterior. El sistema de desechos debe de conectarse a una válvula de salida para que remueva las constantes fugas del anestésico en el circuito. Los absorbentes de carbón tienen un valor reducido; realmente no son prácticos para el uso continuo. Si el olor del anestésico es detectado, entonces algo está mal con el procedimiento o en el aparato, el cual pone a todo el personal en un área de riesgo. Para disminuir la exposición del personal a WAG, el trabajador debe de realizar sus actividades en un campana de humo.

Las grandes fuentes de desechos de gases anestésicos son fugas a través del tubo endotraqueal, máquinas que tienen fugas y desperdicios cuando se llenan los vaporizadores. La fuga del tubo endotraqueal puede ser evitada utilizando un tamaño apropiado para cada paciente e insuflando sus cubiertas apropiadamente. Se puede revisar la presión con jabonadura, realizando este procedimiento a intervalos regulares con lo cual se pudiera detectar y evitar las fugas. Los vaporizadores deben ser llenados al menos, justo antes de que termine el día, así los materiales que salpiquen tienen la posibilidad de evaporarse y disiparse.

Recuperación de un animal que exhala WAG. Es posible que ellos deban de mantenerse en una máquina anestésica (como a en la de desecho) hasta que llegue el tiempo de la extubación. Después de la extubación, la recuperación del animal debe de ser en un cuarto aislado y bien ventilado. La mayoría de WAG es más pesado que el aire, así que los abanicos de techo puede que no los remuevan.

Otras Medidas de Seguridad: Las máquinas de anestesia nuevas generalmente incorporan algunas ventajas, como puede ser un bypass de oxígeno, que puede ser utilizado para limpiar los sistemas de vapores anestésicos en caso de emergencia. Una válvula de liberación de presión negativa esta presente en algunas máquinas para protegerlas en contra de pérdidas desapercibidas de suministro de oxígeno. Estas válvulas admiten aire del ambiente en el sistema si la presión del oxígeno cae. Una falla en la válvula es que la mayor parte de los sistemas utilizan óxido nitroso, este opera disparando automáticamente el flujo del óxido nitroso en el sistema de gotas de presión de oxígeno.

#### **Sistemas de No-respiración**

El volumen de gas que se necesita en los circuitos de respiración de máquinas de anestesia convencional, es demasiado grande para los animales que pesen menos de 7kg. Su volumen tidal es tan pequeño que tomaría demasiado tiempo para que los gases completaran el circuito. Hay, sin embargo, varios tipos de máquinas de anestesia que atienden las necesidades de la anestesia de gas en los animales pequeños. Todas dependen de un flujo continuo de gas anestésico a través de un vaporizador. Los animales inhalan el anestésico directamente. Cuando se exhala el flujo de gas anestésico y los gases de exhalación del animal son llevados o liberados en el cuarto o dentro del sistema de desechos, no es necesario un absorbedor de dióxido de carbono. La mayor parte de los sistemas, incorporan una bolsa de respiración por si esta se requiere para la resucitación (Fig. 18.2). La pieza T-Ayres, la Máscara de Norman y el circuito de respiración Bain, son ejemplos de sistemas de no-respiración que existen comercialmente. Debido a que ellos utilizan relativamente altos y constantes flujos de gas los sistemas no-respiración producen grandes cantidades de WAG. Un sistema de desecho debe de diseñarse cuidadosamente e implementarse para cualquier sistema de no-respiración utilizado.



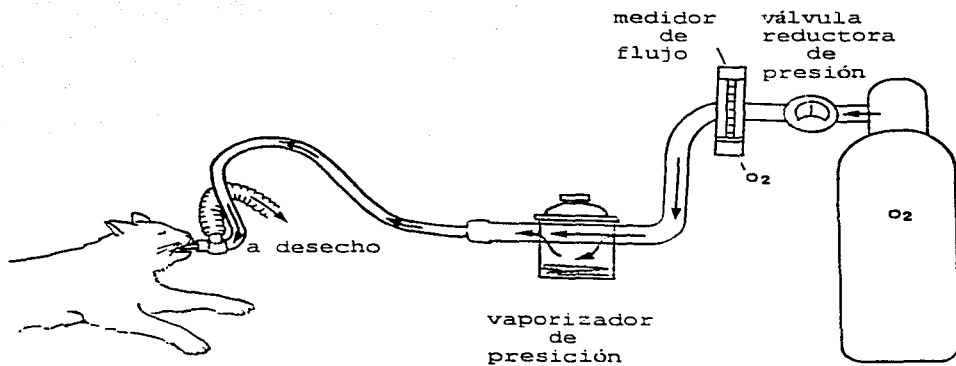


Figura 18.2 Un sistema de gas anestésico de no-respiración con un vaporizador de presión. Este tipo de máquinas es usado con animales de la talla de un gato o más pequeños. Con este tipo de máquinas la expiración del anestésico es totalmente vaciado dentro de la unidad de desecho.

## ANESTESICOS INHALADOS

La clave para comprender las diferencias entre los anestésicos volátiles, se basa en entender la presión de los vapores y su solubilidad en los tejidos. La presión de vapor esta en la medida de su volatilidad. Esto es, entre mayor es la presión del vapor, más fácilmente la sustancia líquida cambia a gas a una temperatura dada. A 20°C, por ejemplo, la presión de los vapores del Dietil éter y del Metoxiflurano son 450 y 23 Torr, respectivamente. Si cada uno de estos compuestos fuera derramado sobre una tabla, el Dietil éter se observa que se evapora mucho más rápidamente que el Metoxiflurano. Por lo tanto es posible lograr una concentración mucho más alta de vapor de éter que de metoxiflurano a temperatura y presión constantes.

La solubilidad de los tejidos es más difícil de relacionar con las experiencias cotidianas. Para que cualquier droga ejerza su efecto, esta debe alcanzar una cierta concentración en los tejidos. Si la droga es muy soluble a los tejidos, una cantidad relativamente grande debe de absorberse en orden, con el objeto de elevar la concentración a un nivel apropiado. Por otra parte, si la droga es menos soluble, se requiere una cantidad pequeña para saturar los tejidos y lograr el nivel anestésico. Lo que significa esto en términos prácticos es que entre más soluble son los vapores anestésicos en los tejidos es mayor el tiempo que toma para alcanzar la concentración que produce anestesia. Cuando la administración de los vapores se detiene, a los vapores altamente solubles les toma mucho más tiempo abandonar el cuerpo. Como resultado, la inducción de anestesia con anestésicos altamente solubles es lenta y el paciente tendrá un periodo de recuperación prolongado. Los anestésicos menos solubles tienden a producir una rápida inducción y una rápida recuperación.

Dietil Eter: Esta es una sustancia muy vieja que se encuentra todavía en algunos laboratorios a pesar de que es bien conocido que es peligroso. Es altamente inflamable y sus vapores pueden alcanzar proporciones explosivas cuando se mezclan con el aire del cuarto. Una vez que el contenedor es abierto, se dificulta el evitar que haya fugas. Las botellas abiertas de dietil éter deben de sellarse nuevamente y se les debe almacenar en un refrigerador especial diseñado a prueba de explosiones. El éter produce una inducción lenta y una recuperación lenta debido a su alta solubilidad en los tejidos. Sin embargo, produce una muy buena relajación muscular y analgesia. Debido a que actualmente existen anestésicos volátiles mucho menos peligrosos su uso es obsoleto.

Cloroformo: Esta sustancia no debe de existir en el bioterio. Algunas personas no se han percatado de esto y no ven la razón por la cual no deba de utilizarse este producto para eutanasia o para anestesia. Ya que después de todo tiene una acción sumamente rápida. Sin embargo, es bien conocido que es carcinogénico y tiene un bajo margen de seguridad anestésica, es altamente tóxico para

ciertas cepas de ratones, incluso si se les expone a pequeñas cantidades de vapores.

**Halothane:** Este es probablemente el anestésico volátil más comúnmente utilizado en medicina veterinaria. Debido a que tiene una baja solubilidad en los tejidos y facilita una anestesia rápida, produce rápidos cambios en la profundidad de la anestesia y una rápida recuperación. Sin embargo, debido a la alta presión de sus vapores este rápidamente puede producir concentraciones peligrosas. Por esta razón se debe usar únicamente con vaporizadores calibrados con exactitud. Una concentración del 4% debe de utilizarse para las cámaras de inducción. Después de la intubación, un máximo de 2.5% debe de utilizarse y no más de 0.9 a 1.5% debe de utilizarse para mantener la anestesia. Para un mejor control, el Halothane puede combinarse con el óxido nítrico.

**Isoflurane:** Desde su introducción para uso humano, este inhalante ha sido usado más frecuentemente en animales. Sus propiedades y sus usos son similares a los del Halothane, pero no produce arritmias cardíacas frecuentemente asociadas con el uso del Halothane. Este producto esta reemplazando rápidamente al Halothane como agente de elección.

**Metoxiflurano:** Este inhalante es una droga estrictamente de uso veterinario. Tiene una baja presión de vapores y una alta solubilidad en los tejidos, la cual es opuesta al Halothane. La máxima concentración de los vapores a temperatura ambiente es aproximadamente al 3%. Esta baja presión de los vapores permite que se use con vaporizadores tipo "Wick". Dado de que es altamente soluble en los tejidos, le toma bastante tiempo el inducir la anestesia o cambiar a una anestesia profunda y correspondientemente también requiere un largo periodo de recuperación. Durante procedimientos muy largos grandes cantidades se pueden disolver en el tejido graso, retrasando la recuperación aún más. La sustancia posee buenas propiedades analgésicas, las cuales continúan a niveles subanestésicos. Esta es una ventaja distintiva en casos de que el dolor este presente durante el periodo de recuperación. Otra ventaja del metoxiflurano es su margen de seguridad. Incluso niveles máximos a temperatura ambiente no son fatales para un animal normal. Una concentración de 2% a 3% debe de utilizarse para la inducción y 0.3% a 1% para el mantenimiento. Para evitar aumento en los tejidos grasos y un retardo en la recuperación durante el procedimiento se deben de utilizar bajas concentraciones.

**Óxido Nítrico:** Este gas no produce una anestesia completa en la mayoría de las especies, por lo que debe de ser utilizado en combinación con otros agentes. Es el único agente de los discutidos en este texto que es completamente gaseoso a temperatura ambiente. Correspondientemente, se suministra en tanques presurizados. El tanque y todas las tuberías y equipos asociados son identificados por un color azul. Se necesita un medidor de flujo separado para el óxido nítrico y este también debe de ser de color azul. A

diferencia del oxígeno, el óxido nítrico se convierte en un líquido cuando se comprime. Conforme el óxido nítrico es extraído del tanque, éste es reemplazado por la evaporación del líquido en la parte inferior. Mientras el líquido esté presente, la presión en el tanque permanecerá a 800 p.s.i. Cuando todo el líquido se ha evaporado la presión cae rápidamente. La presión del tanque de óxido nítrico por lo tanto no es un indicativo de la cantidad que contiene el tanque hasta justo el momento antes de vaciarse. Sin embargo, la cantidad en el tanque puede determinarse pesando éste.

El óxido nítrico proporciona una excelente analgesia y a diferencia de otros anestésicos volátiles, es uno de los que tiene muy poca acción depresiva sobre el corazón. Estas dos cualidades son básicas para su uso. Una concentración de óxido nítrico de menos del 50% es menos efectiva, así la concentración de al menos de 50% debe utilizarse en una mezcla de anestésico. Sin embargo, la proporción de óxido nítrico no debe exceder el 80%, dado de que altas concentraciones pueden reducir la cantidad de oxígeno en la mezcla a niveles menores de los que son necesarios para mantener la vida. De manera práctica lo mejor es mantener el óxido nítrico de 66% a 75% de la mezcla anestésica. Dado que el óxido nítrico tiene muy poca solubilidad en los tejidos, produce una rápida inducción anestésica. Cuando la administración cesa, el óxido nítrico deja muy rápidamente el cuerpo. El flujo de óxido nítrico debe siempre detenerse dos a cinco minutos antes de que el oxígeno es encendido, para dar al sistema tiempo de deshacerse del óxido nítrico conforme deja los pulmones. Si tanto el oxígeno como el óxido nítrico son administrados al mismo tiempo, puede ocurrir hipoxia. El óxido nítrico deja los pulmones tan rápido que desplaza al oxígeno en los alvéolos. Esto puede resultar en una presentación rápida de cianosis en el paciente. Una atención cuidadosa y detallada debe de realizarse para prevenir estas complicaciones infortunadas.

#### BLOQUEADORES NEUROMUSCULARES

Estas drogas están incluidas en este texto, debido a que son utilizadas en conjunto con anestésicos generales en protocolos de investigación, que demandan que no haya ningún movimiento muscular, como por ejemplo en los estudios de los ojos. Estas drogas frecuentemente son referidas como curariformes o drogas paralizantes, siendo denominadas así por el prototipo de este grupo, el curare. Estas drogas no son anestésicos, simplemente ocasionan parálisis de la musculatura esquelética voluntaria y en grandes concentraciones parálisis de los músculos respiratorios. Cuando son utilizadas solas, los animales paralizados están completamente conscientes y pueden sentir dolor. Por lo tanto, el tipo de estas sustancias está absolutamente prohibido. Para realizar experimentos o manipulaciones quirúrgicas con animales bajo la influencia de bloqueadores neuromusculares se deben de utilizar agentes anestésicos efectivos a través de todo el procedimiento. Dado que los reflejos son eliminados por las drogas

curariformes, otros parámetros, como el latido cardíaco, el ritmo respiratorio y la presión sanguínea deben monitorearse para vigilar la condición del animal. Debido a la alta probabilidad de producir parálisis respiratoria, debe de estar siempre disponible equipo de resucitación cuando se utilizan estas drogas. Como estas drogas son rápidamente metabolizadas, el mantener una presión positiva puede ayudar al animal a vivir lo suficiente para eliminar la droga y permitir su recuperación. Algunos bloqueadores neuromusculares comúnmente utilizados son Galamina, Pancronium y Succinylcolina.

### ANALGESICOS

Existen tres tipos de analgésicos: Los Opioides, las aspirinas y las drogas similares a aspirinas. La aspirina y las drogas similares a aspirinas actúan primariamente sobre el sistema nervioso periférico, e inhiben la síntesis de prostaglandinas. No son efectivas en contra de dolor agudo y tienen pocas presentaciones parenterales. Por lo tanto son de uso limitado en la experimentación animal.

#### Opioides

Los opioides están incluidos en las drogas más comúnmente referidas como narcóticos. Estas producen efectos analgésicos interactuando con receptores específicos en el sistema nervioso central. La morfina es el prototipo de este grupo y es el estándar para la medición con otras sustancias similares. Esta sustancia es tanto sedativa como analgésica. También deprime los centros respiratorios y deprime la función cardíaca en menor grado. En los perros induce vómito y defecación. La atropina puede ser mezclada con morfina para reducir estos efectos. Los gatos y los ratones tienden a tener temblores y convulsiones con la dosis de morfina que se daría a un perro, por lo que muchas autoridades recomiendan o están en contra de utilizarla en estas especies.

Otros opioides son también derivados de la morfina, o son análogos sintéticos que carecen de los efectos indeseables de la morfina. La meperidina (Demerol) produce buena analgesia sin mucha acción sedante como la que produce la morfina y con menos vómito y defecación. La oxymorfona (Numorfan) produce menos depresión respiratoria que la morfina y no produce virtualmente depresión cardíaca. La pentazocina (Talwin) es el analgésico más débil de los mencionados anteriormente, pero también tiene muy pocos efectos negativos.

Una de las ventajas de los analgésicos opioides es el hecho de que existen antagonistas farmacológicos efectivos que pueden revertir su acción. La nalorfina (Nalline) y la Naloxona (Narcan) son antagonistas de narcóticos típicos. Todos los opioides y sus antagonistas son sustancias controladas que caen bajo las legislaciones federales para su control, en los Estados Unidos la Administración Federal de Drogas es la que los controla.

### CUIDADOS POSTANESTESICOS Y DE EMERGENCIA

Es importante conocer como reaccionar en situaciones de emergencia, especialmente en los casos de recuperación postquirúrgica. Los tecnólogos y los supervisores deben ser capaces de reconocer y diagnosticar emergencias así como también prevenirlas, particularmente aquellas que ocurren después de la anestesia y de la cirugía.

#### Condiciones que Requieren Cuidados Inmediatos

Debido a lo planeado de los protocolos y a la eficiencia del personal entrenado, la mayor parte de las condiciones de emergencia ocurren raramente en un bioterio. Sin embargo, todo lo siguiente son posibilidades que el tecnólogo debe de considerar para estar preparado:

- . Problemas respiratorios
- . Falla cardíaca
- . Hemorragia masiva
- . Shock profundo
- . Anafilaxis
- . Heridas penetrantes a tórax o abdomen
- . Coma y pérdida de la conciencia
- . Envenenamiento agudo
- . Daño músculo-esquelético masivo
- . Toxemia y septicemia aguda

#### Manejo de las Emergencias

En cualquier emergencia existen cinco puntos básicos de acción los cuales deben de seguirse o al menos considerarse: Alivio de la asfixia, control de la hemorragia, administración de fluidos, inmovilización del daño esquelético y alivio del dolor. Los pacientes en estado de emergencia deben de evaluarse tan rápido como sea posible y tratarse de acuerdo a la situación.

#### Equipo de Emergencia y Medicamentos

El manejo del tiempo es la esencia del tratamiento de las emergencias, así que el equipo necesario y los medicamentos deben de estar disponibles inmediatamente. El siguiente equipo y suministros deben de estar al alcance de la mano:

- . Materiales de vendaje, incluyendo cinta adhesiva, gasa en 1,2 y 3 tontos y toallas sanitarias para usarlas como vendajes de presión.
- . Catéteres urinarios para perros y gatos para ambos sexos.
- . Tubos endotraqueales en varios tamaños.
- . Jeringas hipodérmicas y agujas de varios tamaños.
- . Catéteres intravenosos.
- . Respiradores (Harvard, Bird o Ambu).
- . Guantes quirúrgicos.

- . Estetoscopio.
- . Termómetro.
- . Paquete de material de sutura.

La siguiente lista de material de sutura y soluciones también debe estar al alcance de la mano.

- . Apomorfina.
- . Sulfato de atropina (parenteral).
- . Gluconato de calcio (al 10% parenteral).
- . Clorpromazina.
- . Dexametazona.
- . Doxopram.
- . Epinefrina.
- . Heparina parenteral.
- . Solución de lactato de Ringer.
- . Morfina y otros analgésicos inyectables.
- . Pentobarbital sódico (parenteral).
- . Pitocin.
- . Bicarbonato de sodio (al 1.5%).
- . Solución salina fisiológica (parenteral).
- . Isoproterenol.

La dosificación y las indicaciones para su uso médico deben estar escritas en tarjetas y mantenerlas con los medicamentos, así que no habrá tiempo perdido cuando ocurra la emergencia. Se debe realizar un inventario regularmente para mantener en existencia las sustancias y el equipo mencionado y se debe sustituir cada una de las drogas cuando ha caducado su vigencia. El veterinario y el personal técnico de cada bioterio debe modificar esta lista de acuerdo a las necesidades del bioterio y almacenarlas en un lugar accesible. Así mismo, el personal de cada bioterio debe establecer lineamientos de emergencia o procedimientos operacionales basados en los tipos de modelo de investigación que se utilizan en ese lugar. Un grupo de directrices deben estar escritas, así como de procedimientos y estar accesibles tanto al personal veterinario como al personal técnico.

#### **Observación de la Conducta**

Para determinar la naturaleza de una situación de emergencia, es importante comprender la conducta de los animales de laboratorio, especialmente diferencias en conducta asociadas a la raza, la edad y el sexo. Los cachorros de los perros, por ejemplo, son más activos que los perros adultos. Esto también es extensivo a otros animales. Sin embargo, existen algunas diferencias de raza, por ejemplo, un setter irlandés adulto puede ser mucho más activo que un cachorro de la raza San Bernardo. Las cepas consanguíneas de ratones tienden a ser mucho más asustadizas que las cepas no consanguíneas. Las diferencias en sexo también pueden contribuir a establecer diferencias en actividad y apariencia. Por ejemplo, las conductas relacionadas con el sexo difieren entre machos y hembras.

Así mismo, el escurrimiento vulvar es normal en algunas especies. La presencia de sangre puede ser una señal de emergencia o puede indicar un estro normal.

#### **Exámen Físico**

Se debe realizar un cuidadoso exámen visual de los animales que se sospecha se encuentran enfermos. ¿Como es la cubierta de pelo, está brillante, es saludable? ¿Luce el animal con peso excesivo o desnutrido? ¿ Los ojos están hundidos y carentes de brillo o vida o el animal está alerta? ¿ La respiración es normal, deprimida o acelerada?

Después de realizar un exámen visual, se deben revisar el paladar y las encías del animal. Las encías de los animales sanos son de color rosado; cuando se presionan con el dedo, el color se blanquea pero retorna inmediatamente, si falla el llenado capilar y las membranas mucosas permanecen pálidas más de lo normal, el animal se encuentra en shock o severamente anémico.

La temperatura corporal es otro indicador importante de la condición de los animales. Una temperatura anormalmente alta puede dañar al cerebro y afectar los mecanismos de regulación del cuerpo. Los animales con una baja temperatura deben de mantenerse abrigados y confortables mientras se investiga la causa. Una caída en la temperatura corporal, sin embargo, no siempre es una señal de emergencia. Por ejemplo, las perras gestantes usualmente sufren una caída de la temperatura corporal alrededor de 24 horas antes del parto.

#### **Emergencias Quirúrgicas**

Los animales de laboratorio que van a ser sometidos a cirugía, generalmente son intubados y tienen catéteres intravenosos colocados para que se les suministren fluidos. Los signos vitales deben de vigilarse cuidadosamente en cada uno de estos animales. Si las membranas mucosas especialmente las de la boca, tienen una coloración azulosa, el animal no debe estar recibiendo suficiente cantidad de oxígeno. Esta condición se denomina cianosis y es un signo de problemas serios. La causa de esta situación debe determinarse sin retraso. Una inapropiada colocación del tubo endotraqueal puede ser el origen. Si el tubo ha sido colocado en el esófago por equivocación, el animal puede empezar a recobrar de la anestesia durante la cirugía, en estos casos puede ser necesario dar al animal un anestésico intravenoso. Entonces el tubo debe ser retirado, el animal reentubado apropiadamente y proporcionarle el anestésico gaseoso nuevamente.

Otros problemas respiratorios y cardíacos pueden ocurrir durante los procedimientos quirúrgicos. Las drogas y el equipo mencionado con anterioridad deben ser suficientes para la mayor parte de las emergencias quirúrgicas.

Una vez que una emergencia ha sido puesta bajo control y los animales se encuentran retornando a la normalidad, el supervisor debe sentarse con todos los técnicos y con el staff veterinario



para discutir que es lo que ha pasado. A través de revisar todos estos eventos, los técnicos estarán mejor informados y también serán más capaces de detectar problemas en los cuartos de los animales asignados. Los técnicos que reportaron el problema y el tratamiento de los animales, deben de ser valorados y estimulados. Estos premios a largo plazo estimulan la moral y fortalecen la confianza del individuo.

Los tecnólogos y los supervisores deben trabajar con el veterinario en el bioterio en estrecho contacto para mejorar cualquier procedimiento. Los cambios pueden iniciarse variando las formas de los reportes, haciendo que estos reportes sean mucho más eficientes. Los técnicos y los veterinarios que usan los reportes también deben de proporcionar información.

Las discusiones regulares, las sesiones de entrenamiento con los técnicos y los recorridos periódicos por los cuartos de los animales, hacen que el trabajo sea más sencillo e incrementan la eficiencia de los reportes, así como de los registros y controles de enfermedad. El sistema más eficiente, es el que permite la menor posibilidad de que se presenten problemas. El mejoramiento de la eficiencia y los altos niveles de competitividad del personal mejoran la eficiencia de la unidad de investigación.

Tabla 18.1 Sedación, analgesia y dosis de anestesia para drogas inyectables (en mg/Kg).

Droga	Sedación/Analgesia			Anestesia		
	IP	IV	IM	IP	IV	IM
<b>RATON</b>						
Ketamina	25-50	-	22	100-200	50	400
Thiopental	-	-	-	-	25-50	-
Fentanyl-Droperidol	-	-	-	-	-	0.2-0.?
Pentobarbital	-	-	-	40-80	40-70	-
<b>RATA</b>						
Ketamina	20	-	22	40-160	-	44
Thiopental	-	-	-	25-48	-	40
Fentanyl-Droperidol	-	-	.13-.16	-	-	0.3
Pentobarbital	-	-	-	25-40	-	35-40
<b>CONEJO</b>						
Ketamina	-	-	22-35	-	15-20	44
Xylazina	-	-	-	-	3	5-10
Thiopental	-	-	-	-	30	-
Urethane	-	-	-	500-1000	-	-
Fentanyl-Droperidol	-	-	.15-.17	-	-	-
Pentobarbital	-	-	-	40	25-40	-
<b>COBAYO</b>						
Ketamina	-	-	22-64	-	-	44-256
Xylazina	-	-	-	-	3	5-10
Thiopental	-	-	-	20	-	55

Tabla 18.1 Sedación, analgesia y dosis de anestesia para drogas inyectables (en mc/Kg). cont.

Droga	Sedación/Analgesia			Anestesia		
	IP	IV	IM	IP	IV	IM
COBAYO						
Pentobarbital	-	-	-	30	-	15-30
HAMSTER						
Ketamina	100	-	40	200	-	100
Thiopental	-	-	-	25-48	-	40
Pentobarbital	30	-	-	50-90	-	-
GERBO						
Ketamina	-	-	20	-	-	44
Pentobarbital	-	-	-	60	-	-
PERRO						
Promazina	-	-	2-6	-	-	-
Acetylpromazina	-	-	.05 3mg max.	-	-	-
Ketamina	-	-	-	-	2-7	22-33
Ketamina con acetylpromazina	-	-	-	-	-	22
Ketamina con Xylazina	-	-	-	-	-	15
Xylazina	-	-	1-2	-	-	-
Chorpromazina	-	-	2	-	-	-
Thiopental	-	-	-	-	22	-
Thiopental con Acetylpromazina	-	-	-	-	9	-
Thiamylal	-	-	-	-	22	-

Tabla 18.1 Sedación, Analgesia y dosis de anestesia para drogas inyectables (en mg/Kg) cont.

Droga	Sedación/Analgesia			Anestesia		
	IP	IV	IM	IP	IV	IM
<b>PERRO</b>						
Fentayl-Droperidol	-	-	-	-	-	.1
Pentobarbital	-	-	-	-	26-31	-
<b>GATO</b>						
Promazina	-	-	2-6	-	-	-
Acetylpromazina	-	-	.1	-	-	-
Ketamina	-	-	-	-	2-7	10-30
Xylazina	-	-	1-2	-	-	-
Chlorpromazina	-	-	2	-	-	-
Thiopental	-	-	-	-	20-30	-
<b>RUMIANTES</b>						
Promazina	-	-	1-2	-	-	-
Acetylpromazina	-	-	.1	-	-	-
Ketamina (oveja)	-	-	-	-	2	-
Xylazina (bovino)	-	-	.1	-	-	-
Xylazina (oveja)	-	-	1	-	-	-
Xylazina (cabra)	-	-	.05	-	-	-
Thiopental bovino	-	-	-	-	10	-
Thiopental (oveja)	-	-	-	-	25	-

Tabla 18.1 Sedación, analgesia y dosis de anestesia para drogas inyectables (en mg/Kg). cont.

Droga	Sedación/Analgesia			Anestesia		
	IP	IV	IM	IP	IV	IM
<b>RUMIANTES</b>						
Thiopental (cabra)	-	-	-	-	25	-
Pentobarbital	-	-	-	-	10	-
<b>CERDOS</b>						
Acetylpromazina	-	-	.2	-	-	-
Ketamina	-	-	5	-	5-7	10-20
Thiopental	-	-	-	-	6-10	-
Pentobarbital	-	-	-	-	35	-
<b>PRIMATES NO HUMANOS</b>						
Promazina	-	-	2-6	-	-	-
Ketamina	-	7-14	5-15	-	20-25	28-45
Xylacina	-	-	1-2	-	-	-
Thiopental	-	-	-	-	22-25	-
Fentanyl-Droperidol	-	-	.06	-	-	.11
Pentobarbital	-	-	-	-	20-33	-
<b>AVES</b>						
Ketamina	-	-	-	-	-	20-50
Urethane	-	-	-	300	-	-
Chloral Hydrate/ Magnesium sulfato/ pentobarbital	-	-	-	-	-	2.5
Pentobarbital	-	-	-	-	10-30	-

Tabla 18.1 Sedación, analgesia y dosis de anestesia para drogas inyectables (en mg/Kg).

Droga	Sedación/Analgesia			Anestesia		
	IP	IV	IM	IP	IV	IM
			HURON			
Acetylpromazine	-	-	-	-	-	.10-.2
Ketamina	-	-	-	-	-	20-30
Xylazina	-	-	-	-	-	1-4 c/Ketamina
			REPTILES			
Ketamina (lagarto)	-	-	-	-	-	25-30
Ketamina (vibora)	-	-	-	-	-	50
Ketamina (cocodrilo)	-	-	-	-	-	12-25
Ketamina (tortuga)	-	-	-	-	-	60-80
Chlorpromazine	-	-	-	-	-	10
Tricaine methanesulphonate (MS-222) (vibora) -	-	-	-	-	-	180-240
Tricaine methanesulphonate (MS-222) (cocodrilo)	-	-	-	-	-	80-100

**Tabla 18.2 Dosis de anestesia para aplicarse por inmersión de la droga en el agua.\***

Droga	Dosis de inmersión
<b>PECES</b>	
Tricaina methanesulphonate	30-100 ppm, dependiendo sobre el nivel de anestesia
Tricaina methanesulphonate	1000 ppm

\* Los datos en estas tablas están adaptados de las referencias 3,4,5 y 8 de la lista de lecturas complementarias que aparecen al final de este capítulo.

**Tabla 18.3 Dosis de anestesia inhalada.\***

Droga	Concentración de vapor	
	Inducción	Mantenimiento
Diethyl ether	10-20%	4.0-5.0%
Halothane	4.0%	0.5-2.0%
Methoxyflurane	3.0-3.5%	0.4-1.0%
Enflurane	2.0-2.5%	0.5-1.5%

\*Los datos en estas tablas están adaptados de las referencias 3,4,5 y 8 de la lista de lecturas complementarias que aparecen al final de este capítulo.

## CAPITULO DIECINUEVE

### LA EXPERIMENTACION CIENTIFICA

Una vez que el científico identifica un problema de la ciencia y formula una posible solución, se deben diseñar experimentos para probar sus hipótesis. Uno de los elementos más importantes del diseño experimental es la elección del modelo en el cual va a ser probada la hipótesis. Una vez que el modelo ha sido seleccionado, se deben de planear los elementos del diseño experimental, como las variables controlables y experimentales.

#### MODELOS ANIMALES

Un modelo biomédico es un animal o un sistema inanimado alterno, que simula o predice acerca de un proceso o condición biomédica. Este proceso o condición puede desarrollarse en cualquier sistema viviente, como puede ser un animal o una planta y el modelo puede ser cualquiera que proporcione datos válidos relacionados con la hipótesis. Esta amplia definición de modelo biomédico puede incluir estudios epidemiológicos, representaciones matemáticas de interacciones moleculares o de su conformación, sistemas celulares o químicos in-vitro o un sistema viviente completo.

Es posible que se requiera la combinación de diferentes modelos para solucionar un problema de investigación biomédica en particular. Por ejemplo, en la búsqueda de la causa de la hipertensión en humanos, los científicos han utilizado como modelos encuestas sobre el tipo de vida de los seres humanos, estudios crónicos en animales congénitamente hipertensos y estudios in-vitro sobre la reactividad de las células endoteliales vasculares a los lípidos. Todos estos modelos de investigación han sido utilizados para solucionar este problema. Los investigadores están obligados a seleccionar modelos para los cuales, desde un tipo de vista científico, se adaptan mejor a las especificaciones de la hipótesis o a los objetivos experimentales. Ninguna especie animal o modelo de investigación es el modelo ideal para más de un problema biomédico.

Un modelo biomédico ideal debe de satisfacer los siguientes criterios:

1. Debe de ser posible y reproducible o predecir procesos biomédicos o condiciones biomédicas.
2. Debe estar disponible o al menos producible, para que el investigador obtenga fácilmente datos que puedan tener utilidad estadística y validar la investigación.
3. El modelo debe ser económico en su obtención y en su desarrollo.



4. Si se utiliza un modelo inanimado este debe ser fácil de manejar y de cuidar y también de ser económico y con el menor equipo posible.

5. Se debe de contar con una amplia base de información que permita establecer comparaciones de los datos nuevos que apoyen la exactitud, la especificidad y la validez del modelo.

Como un modelo que satisficase todos estos criterios se encuentran las ratas SHR (espontaneamente hipertensas). Muchos investigadores cardiovasculares consideran a estas ratas como esenciales en los estudios de hipertensión, debido a la reproducibilidad del proceso y a las complicaciones asociadas con la edad que presentan. La mayoría de las ratas SHR desarrollan hipertensión y se han desarrollado dos sublíneas que son susceptibles de presentar apoplejía y obesidad. Estas ratas son fáciles de obtener de un gran número de proveedores comerciales y son relativamente baratas tanto en su compra como en su manutención. Las ratas SHR son ligeramente más difíciles de manejar que algunas de las cepas más dóciles, pero no hay una diferencia significativa. Así mismo, existe una enorme cantidad de información disponible de estos animales.

Un modelo que no llena muy bien esta lista de criterios es la raza de gatos con ojos azules, la mayoría de estos animales son sordos. El gen dominante autosómico causa esta enfermedad genética, simula la enfermedad en humanos conocida como Waardenburg. Estos animales entonces satisfacen el primer criterio para un modelo animal que es similar a una condición o enfermedad humana. También estos animales son fáciles de manejar y de mantener. Sin embargo; estos animales no están disponibles y no existe mucha información acerca de ellos.

#### DISEÑO EXPERIMENTAL

Una vez que se ha desarrollado una hipótesis derivada de un problema biomédico y se ha elegido el modelo o los modelos con los cuales se va a probar esta hipótesis, los científicos deben de diseñar el experimento.

En el diseño del experimento, el científico debe de considerar el principio de las tres R's descritos por Russell y Burch: Reemplazo de los animales cuando sea posible por métodos no animales, como pueden ser cultivos celulares o de tejidos o modelos matemáticos; Refinamiento de los procedimientos para disminuir el estrés o el dolor a los animales; y Reducción del número de animales a utilizarse, hasta el mínimo que servirá o que tendrá utilidad para el propósito, conservando con esto validez estadística y beneficios del procedimiento científico.

Para diseñar el procedimiento, el investigador debe de realizar una búsqueda bibliográfica para reducir al mínimo las posibilidades de una duplicación o copia de estudios previos. Algunas repeticiones experimentales pueden ser necesarias para confirmar

los hallazgos de otros investigadores. La repetición también da al investigador un medio para comparar sus técnicas con los trabajos previos dados en el mismo campo.

Una reducción en el número de animales utilizados puede ser, cuando los investigadores coordinan sus estudios, utilizando diferentes tejidos de un solo animal. En algunos casos, primates y otros animales de vida prolongada pueden ser utilizados en estudios múltiples. Los nuevos métodos que están disponibles para toxicología, determinan las dosis letales de sustancias químicas, utilizando muy pocos animales de los que se utilizaban antes.

Los investigadores frecuentemente reemplazan las técnicas que utilizan animales con las que no los necesitan o pueden utilizar menos especies raras en lugar de especies más comunes. Los programas computarizados sobre sistemas de cultivo de células y órganos, algunas veces pueden ser utilizados en lugar de un estudio realizado en un animal completo, cuando los problemas permiten que se estudie o se realicen pruebas muy específicas. Si es necesario el utilizar animales, debe de considerarse el utilizar las especies menos evolucionadas que continúen presentando las características deseadas. Entonces los invertebrados pueden reemplazar a vertebrados. Los cultivos de tejidos y los cultivos bacterianos, por ejemplo, han reemplazado las necesidades de animales en las pruebas de potencia de vacunas y toxicología. Un simulador de resucitación cardio-pulmonar canina puede reemplazar a animales vivos como forma de enseñanza en la medicina veterinaria.

El refinamiento de los procesos existentes puede disminuir el número de animales, así como la severidad del dolor, o del estrés durante la experimentación. Algunos animales pueden entrenarse para que cooperen con disposición, reduciendo la utilización de movilización química o física. Los anestésicos, los analgésicos y los tranquilizantes deben de utilizarse en los animales apropiadamente para producirles alivio, a menos que su uso interfiera con la investigación. Si es innecesario para un animal el recobrase de un procedimiento quirúrgico, éste debe de ser sacrificado con un método eutanásico mientras se encuentre bajo anestesia. Siempre que sea posible, se debe buscar como punto terminal de la investigación la muerte del individuo con el objeto de disminuir su sufrimiento y el estrés.

#### VARIABLES EXPERIMENTALES Y SU CONTROL

La reproducibilidad es un criterio fundamental de la investigación, no importa que problema de investigación se este estudiando. Para lograr la máxima reproducibilidad experimental cuando se emplean modelos animales, los factores que afectan la respuesta biológica deben de considerarse. Estas respuestas biológicas son expresiones de factores genéticos y ambientales, que se manifiestan desde la etapa de cigoto hasta la muerte. Todos los

componentes del ambiente del animal tienen una posibilidad de impacto sobre su respuesta biológica y deben de ser homogeneizados.

Algunos de los factores físicos y químicos ambientales más importantes se describen a continuación.

**Las instalaciones:** Tanto el diseño de las instalaciones como sus procedimientos de mantenimiento, afectan los niveles de calidad de vida a que son sometidos los animales en un laboratorio. Los patrones de tráfico de los insumos y los sistemas de barrera utilizados, determinan los niveles de contaminación microbiana. El tipo de luz utilizada en los cuartos de los animales afecta el desempeño endocrino y reproductivo de los animales. Los niveles de ruido también son una variable importante.

**La caja:** La caja constituye el ambiente inmediato circundante de los animales y necesitan ser por lo tanto seleccionadas con mucho cuidado. Diferentes tipos de estudios requieren diferentes diseños de cajas. Cajas en forma de zapato y opacas para reproducción de roedores parecen ser las mejores. Cajas suspendidas son adecuadas para roedores adultos pero no para la crianza. El uso de lámina galvanizada en las cajas puede ocasionar ingestión de zinc, lo cual puede tener una repercusión en los estudios de minerales. Los materiales de cama pueden contaminarse con sustancias químicas exógenas. Los materiales de cama hechos de maderas blandas, como el cedro, producen proliferación de enzimas hepáticas que afectan los tiempos de anestesia y otros parámetros. El uso de cubiertas u otro tipo de filtros sobre las cajas afectan la ventilación y por lo tanto los niveles de amonía y de contaminantes microbianos.

**Localización:** La localización de las cajas sobre el anaquel y la posición del anaquel en el cuarto también son variables que deben de vigilarse. Debe de considerarse la distribución aleatoria de las cajas con el objeto de evitar la introducción de sesgos. Por ejemplo, la proximidad de los animales hacia la puerta de entrada, los ductos de aire o el piso pueden ocasionar diferencias en niveles de temperatura para los animales.

**La Comida y el Agua:** Los alimentos son la fuente más importante de variabilidad en los estudios con animales. Hay una gran cantidad de variaciones en la concentración de los ingredientes esenciales, particularmente en las dietas preparadas exprofeso. Las dietas pueden estar contaminadas con sustancias químicas, microbios y parásitos. El tipo de agua y la calidad de la misma, también tienen efectos sobre la investigación. El agua de un sistema automático o de botellas con tubos, puede diferir tanto en calidad como en disponibilidad. El agua clorinada puede afectar a algunas especies más que a otras. Los tipos de entrega del agua y la naturaleza química deben de ser constantes.

**Envío:** La transportación de los animales ocasiona estrés, pérdida de peso y cambios en la conducta. Los sistemas de envío pueden introducir variables como la posibilidad de que los animales

adquieran enfermedades infecciosas. Los animales necesitan tiempo para aclimatarse a su nuevo ambiente antes de ser trabajados o manipulados en el proceso experimental.

**Medio Ambiente:** La temperatura y la humedad pueden tener influencia sobre la susceptibilidad de enfermedades. La cola anillada en los roedores se piensa que esta asociada con baja humedad y altas temperaturas. La temperatura del cuarto afecta los colores, las ferohormonas y la transmisión de patógenos. El fotoperiodo, la intensidad luminosa y la longitud de onda de luz tienen efecto importante sobre los parámetros fisiológicos. Las ratas albinas son susceptibles a la degeneración de los fotoreceptores en los ojos, cuando son expuestas a luces de alta intensidad. El ruido generado por los procedimientos de rutina del bioterio, las alarmas contra incendios y los radios molestan a los animales, ocasionandoles a éstos cambios fisiológicos y de la conducta.

**Contaminantes Gaseosos:** La contaminación puede introducirse en el medio ambiente del cuarto a través de los sistemas de ductos o puede originarse en el mismo ambiente de la caja. Los solventes y otras sustancias químicas deben de ser utilizados con mucho cuidado en el cuarto de los animales. Pequeñas concentraciones de cloroformo son nefrotóxicas para algunas cepas de ratones machos, por lo tanto, el cloroformo no debe de ser almacenado en áreas próximas a los cuartos de animales. Los niveles de amonio en el aire tienen influencia sobre la patogénesis de la enfermedad conocida como micoplasmosis respiratoria murina. Los niveles de amonia están determinados por la frecuencia del limpiado de la caja, así como por la ventilación.

**Insecticidas:** Los pesticidas pueden ocasionar muchas complicaciones en la investigación, alterando la respuesta inmune y el metabolismo de las drogas. Antes de utilizar insecticidas, los investigadores deben de estar informados sobre la necesidad y sobre su seguridad. Cuando sea posible no se deben de utilizar técnicas de control para nematodos. Si es necesario utilizar insecticidas, estos deben de seleccionarse cuidadosamente y usados esporádicamente.

**Drogas:** Las drogas utilizadas para los tratamientos de rutina o control de enfermedades, anestesia y eutanasia, pueden afectar el metabolismo de los animales y otros órganos que actúan como órganos de ataque primario. Las rutas de administración, dosis, frecuencia o tratamiento, e ingredientes de la droga pueden afectar el estudio.

**Agentes Limpiadores y Desodorizantes:** Muchas sustancias químicas utilizadas en forma rutinaria para limpiar el bioterio tienen efectos importantes sobre la actividad enzimática microsomal. Estas pueden enmascarar ferohormonas, interfiriendo con la función de estos mediadores importantes de la conducta.

**Sustancias Químicas Esterilizantes:** Varias de las sustancias químicas utilizadas para esterilizar el equipo de animales gnotobióticos son carcinogénicas. La exposición del alimento a oxido de etileno reduce la concentración de vitaminas así como de niveles protéicos.

**Microbios:** Un gran número de enfermedades infecciosas y de enfermedades infecciosas asintomáticas, afectan la respuesta biológica. Ya sea que estas enfermedades produzcan signos clínicos o no, afectan significativamente los datos experimentales.

La buena práctica científica demanda de todas las medidas razonables posibles para el control de las variables. Es esencial el verificar la calidad genética y todos los factores ambientales físicos, químicos y microbiológicos.

No se espera que los tecnólogos conozcan todas las enfermedades y especificaciones de las condiciones ambientales que afectan los diferentes modelos de investigación. Sin embargo, el conocimiento de las variables y la preocupación por reducir la variación al mínimo, son paradigmas a considerar cuando se desea dirigir apropiadamente un bioterio. La participación activa en las discusiones de renovación del bioterio, de mantenimiento de la salud y de mantenimiento de los cuidados y los programas ambientales, es esencial para desarrollar un buen trabajo en un bioterio.

## CAPITULO VEINTE

### ESTADISTICA

Para comprender los factores que participan en el diseño de un protocolo escrito o para comprender la importancia de los resultados de un estudio, el tecnólogo debe de comprender la terminología estadística y los fundamentos de la estadística. Las computadoras y una gran cantidad de programas de computo de alta calidad y de bajo precio pueden manejarse fácilmente y realizar un gran número de cálculos, incluso repetitivos para análisis estadísticos.

Cuando uno escucha que nada puede ser mejorado con la estadística, esto no es realmente cierto, pero se debe de estar prevenido de que la estadística puede disminuir la credibilidad. Por ejemplo, la siguiente vez que usted escuche "Nuestro grupo tuvo 17% menos caries", pregunte si esto pudo deberse a que el grupo tenía 17% menos dientes.

A continuación se proporcionarán algunos puntos importantes para una mejor comprensión de la estadística .

#### TEORIA DE LA DISTRIBUCION

Hay una gran variabilidad en prácticamente cualquier población. Esta variación puede ser continua y medible; por ejemplo, la altura en los humanos, concentración de hemoglobina en los perros o la concentración de ácido ascórbico en las glándulas adrenales de la rata. La variación también puede ser discreta y contable; por ejemplo, el número de colores en el pelaje en la generación F2 de una cruce entre ratones DBR y C3H, el tamaño de la camada de los hámsters o la proporción de sexos en la camada.

En la investigación biomédica la evaluación de los datos, es la distribución normal el tipo más importante de distribución continua. Frecuentemente se le llama distribución Gauseana, debido a Carl F. Gauss quien estudió esto a principios del siglo IX.

Si la medición de una característica (o variable) fuera graficada sobre el eje de las Xs y el número de veces de cada medición fuera observado (frecuencia) sobre el eje de las Ys (Fig. 20.1) se podrían notar inmediatamente cuatro relaciones matemáticas:

1. La curva de distribución normal es simétrica a su promedio y existen tanto valores superiores a la media hacia un lado, como valores inferiores a la media hacia el otro lado.
2. Existen mayor número de mediciones iguales a la media que de cualquier otro valor.
3. La curva tiene la forma de una campana. Diferentes tipos de datos pueden revelarnos que la curva podría tener una apariencia más alta o más corta o más ancha o más estrecha pero siempre con la apariencia de una campana.

4. Los puntos terminales de la curva, llamados colas, se aproximan al eje de la Xs, pero de hecho no lo interceptan o lo tocan. En la práctica muy pocas veces se requiere extender las colas muy lejos.

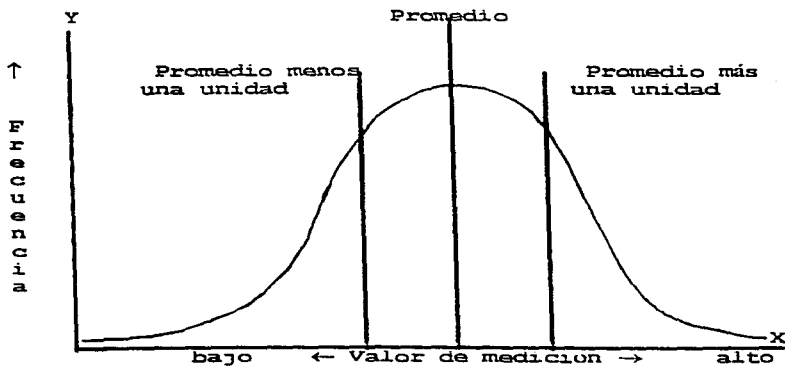


Figura 20.1 La distribución normal. Note que la frecuencia y los valores medidos son aproximadamente los mismos a cualquier lado de la media.

## ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA

Imagine que ha leído dos listados de concentraciones de hemoglobina, en donde cada listado contiene datos que derivan de cien animales que fueron probados en un grupo y de cien animales de un grupo control. ¿Sería posible el recordar los datos del animal 35 y comparar éstos con su contraparte de la otra lista? Por supuesto que no. Ya que nuestra mente no maneja grandes cantidades de datos numéricos fácilmente. Por lo tanto nosotros tenemos que buscar la manera de condensar estos datos, de tal manera que unos pocos números nos expresen la esencia de toda la información.

La media aritmética ( $m$ ) es el resultado de sumar un conjunto de números y dividir la suma entre el número de datos del conjunto. Por ejemplo 1, 2 y 3 comprenden un conjunto de 3 números los cuales sumados dan 6. Dividiendo la suma entre los 3 resultados nos da un promedio de 2. Debido a que en la mayoría de las poblaciones la media es el centro de todos los valores, la media aritmética es llamada valor de tendencia central. Algunas veces, sin embargo, el promedio puede ser inapropiado o prestarse a error. Por ejemplo, considérese que el ingreso anual de un técnico y el del Sr. Emilio Azcarraga Milmo se promedian, esto haría a los dos millonarios. Existen otras situaciones en las cuales una media de tendencia central no proporciona información de interés; por ejemplo, el tamaño promedio de una camada de 8.609332 crías por camada ¿Cuántas camadas tienen este tamaño? Ninguna, por supuesto. Sería de mucho mayor utilidad conocer el número de la camada más pequeña y los números de las camadas más grandes y por supuesto el número de las camadas más comunes. Estos son llamados clases pequeña, grande y modal (Fig. 20.2).

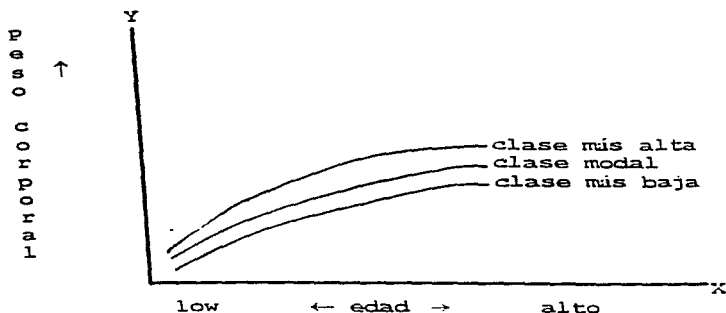


Figura 20.2 Gráfica del peso corporal ganado de ratones, mostrando el mayor, el común (modal) y la clase más baja de peso esperada a una edad determinada.



En algunas ocasiones en los estudios biomédicos se presentan otros tipos de distribución continua denominados distribución bimodal, en la cual dos diferentes conjuntos de valores se presentan con altas frecuencias. Gráficamente una distribución bimodal se parece a las dos jorobas de un camello. Frecuentemente lo que ocurre, es que si hay una distribución bimodal significa que se está trabajando con dos poblaciones diferentes. Por ejemplo, supongamos que 1000 ratones albinos destetados fueron pesados y entonces se graficó una curva de su peso sobre el eje de las Xs y la frecuencia de cada peso medido fue graficado sobre el eje de las Ys. La gráfica podría mostrar una curva bimodal similar a la que se muestra en la figura 20.3. La razón para esta bimodalidad, es la de que las hembras de los ratones usualmente pesan menos que los ratones machos de la misma edad, así que en realidad se tienen dos poblaciones diferentes: ratones machos y ratones hembras.

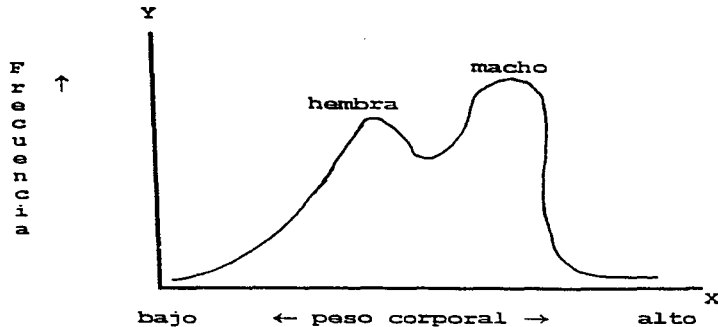


Figura 20.3 Una distribución bimodal del peso corporal de ratones albinos destetados. El peso medio para las hembras es sustancialmente más bajo que el de los machos, por lo tanto se produce una curva bimodal cuando se grafican estos datos.

La mediana frecuentemente es de ayuda para estimar el valor central en un grupo de datos. Si un conjunto de valores son arreglados en el orden de su magnitud, el valor que se localiza exactamente a la mitad de todos los valores es el valor de la mediana. La comparación de la mediana y de la media aritmética de una muestra, es una técnica estadística útil. Si la media y la mediana están muy próximas una de la otra, la muestra es muy probable que tenga una distribución normal (o distribución Gaussiana). Sin embargo, si estos valores están relativamente separados, se presentará una tendencia o deslizamiento de la curva hacia un lado. La mediana es menos confiable que la media, dado que la mediana es más posible que varíe de una muestra a otra que la media. Un deslizamiento moderado o distribución hacia un extremo puede mostrar tres diferentes valores para la moda, la mediana y la media (Fig. 20.4). En una distribución normal estas mediciones coinciden y todas tienen aproximadamente el mismo valor.

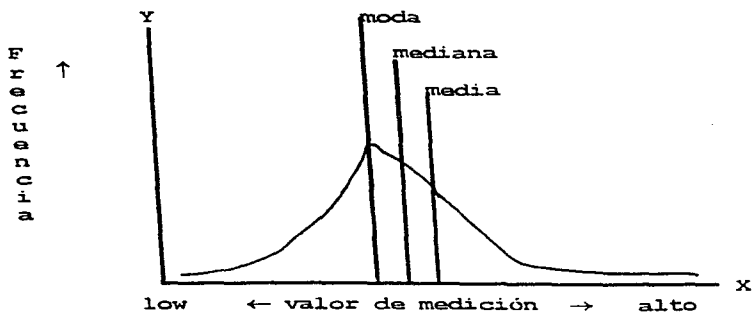


Figura 20.4 Una distribución sesgada. Este tipo de curva de distribución se presenta cuando la moda, la mediana y la media no coinciden. Entre mayor es la diferencia de sus valores, mayor será el deslizamiento de la curva hacia un extremo.

La mayoría de las mediciones que se han presentado especialmente en la media aritmética, dan únicamente mediciones de población. Todos los días la experiencia muestra que las mediciones como el tiempo para alcanzar la madurez, el rango de ganancia o pérdida de peso, edad de muerte, o la concentración de la hemoglobina, varía de individuo a individuo, estas variaciones son inherentes a todos los seres vivos. La media no proporciona información sobre el grado o la cantidad de esta variación. Una forma simple de indicar la cantidad de variación de una muestra es anotar los extremos, dándoles un rango entre el valor más alto y el valor más bajo. Este tipo de evaluación no es muy útil debido a que considera únicamente dos valores en toda la muestra. Esta presentación no se concentra en la media e ignora el hecho de que la mayor parte de los valores están próximos a la media. El rango puede entonces representar los extremos y sobre todo valores poco usuales. Más aún es muy probable que los rangos sean diferentes de una muestra a otra, lo cual prácticamente nos asegura que esto no va ser repetible.

Para mostrar la distribución acumulada, como la proporción de la población que responde a una cierta dosis de droga, la ojiva (por su rima con vida) se puede utilizar. La ojiva es una curva sigmoide (con forma de S) que se obtiene al graficar los valores de la variable sobre el eje de las Xs y la frecuencia acumulada (la cual es la suma de todas las frecuencias observadas para los valores iguales o menores que Xs) sobre el eje de las Ys.

La Figura 20.5 muestra el porcentaje acumulado de la población respondiendo a cierta dosis. Nótese que cuando la ojiva está derivada de una población distribuida en forma normal, la parte de la curva sobre el nivel del 50% es tácticamente igual al descrito en la parte baja, rotado sobre 180°, aproximadamente a 1.0 del valor de X y del 50% de las coordenadas Y.

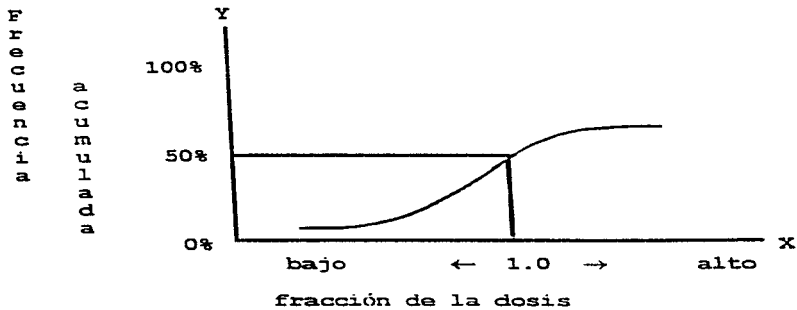


Figura 20.5. Porcentaje acumulado de la población que responde a una cierta dosis. En este caso la ojiva está derivada de una población de distribución normal, entonces, la parte de la curva sobre el nivel del 50% es el mismo que en la parte de abajo pero rotado 180° alrededor de 1.0 X y de 50% de las coordenadas de la Y.

La ojiva es útil no únicamente para expresar la proporción, sino también para obtener una rápida estimación de la dispersión de las curvas de su porción central (línea recta): Entre mayor es el ángulo entre la porción y el eje de las Xs, es menor la cantidad de dispersión.

Una ojiva también puede ser utilizada para probar si es razonable o justificable el asumir que un conjunto de datos, como los valores de ingesta de alimento tienen una distribución normal. Primero, examine en una hoja de papel semilogaritmico el cual puede ser comprado en cualquier papelería. Note que el eje de las Xs está marcado en igual número de intervalos de espacios, los cuales pueden ser etiquetados para marcar los valores de un conjunto de datos. El eje de las Ys ya está marcado con valores de 0.01 a 99.99 ; estos números son los porcentajes acumulados de la población. Cero y cien no aparecen en el papel debido a que los intervalos sobre el eje de las Ys siguen una progresión logaritmica que no puede tener una expresión de cero. Ahora grafique los puntos de los valores intersectando las frecuencias acumuladas. Si estos puntos graficados sobre el papel semilogaritmico simulan o semejan una línea recta, entonces estos provienen de un conjunto de valores que tienen una distribución normal. Es así que la pendiente de la línea recta indica la naturaleza de la dispersión: Valores bajos = a una alta dispersión y valores altos = a una baja dispersión (Fig.20.6). (La pendiente de ésta expresada numéricamente como la tangente del ángulo entre la línea y el eje de las Xs). Este método de probar la distribución normal no es muy exacto, pero si es el más simple.

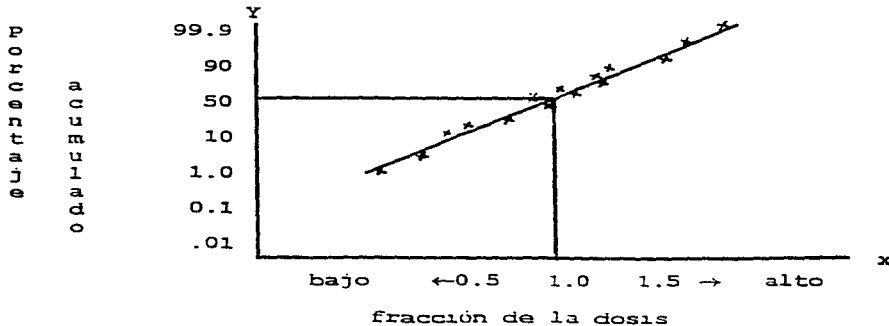


Figura 20.6. Una curva de probabilidad obtenida utilizando papel semilogaritmico.

El uso de papel semilogarítmico evita el perder tiempo calculando las transformaciones llamadas probits para los cuales el tipo de gráfica se está realizando. Si la muerte es el efecto que debe de ser medido en el ejemplo dado en la figura 20.6 la absoluta cantidad de que coincida con la fracción 1.0 de la dosis pudiera ser la LD 50, dado de que es la dosis que mata al 50% de la población.

Es conveniente conocer en donde un valor en particular descansa dentro de la distribución normal con respecto de todos los valores recolectados de una muestra o de los datos. Esta información se describe por medio de percentiles, los cuales son los valores por debajo del cual un por ciento de la distribución de los valores puede caer. Si consideramos los valores de la concentración de hemoglobina de un grupo control (presumiblemente sanos), estableciendo dos percentiles, el percentil 2.5 y el percentil 97.5 y substraemos al percentil bajo de los percentiles altos, se puede establecer que el 95% de todos los valores descansan en este rango. Esto es como establecer el rango de los valores, denominados normales, que están cayendo en el percentil 95 de esta población. La figura 20.7 muestra esto con una serie de datos hipotéticos de concentración de hemoglobina.

En la figura 20.7 el 50% de los rangos descansa entre los valores a P25 (percentil 25) y el valor de la segunda intersección de la curva con la coordenada 25%, la cual es P75 (percentil 75). Entonces, el 50% de los valores puede ser 4.0 ó mayor pero menos que 7.0. Este concepto puede ser mejor comprendido si se sigue la curva con un lápiz y se suman todos los movimientos verticales para obtener la frecuencia acumulada, contando tanto hacia arriba como hacia abajo los movimientos verticales positivos. El trazo debe establecerse en la intersección de X y Y y moverse verticalmente de aproximadamente 0 a 25%. Para obtener hasta P75 el trazo debe de moverse hasta el nivel 50% y entonces adicionarle 25% (50%-25%) para obtener la segunda intersección. El 75% de los movimientos verticales (75% de la frecuencia acumulada) ha sido ahora cubierta. Moviendo el lápiz hacia abajo hacia el término de la gráfica se puede cubrir la mayor parte del 100% de los posibles movimientos verticales; la mayor parte debido a que las colas nunca tocan el eje de las Xs.

Nótese que durante el trazado el lápiz a pasado arriba del 100% del área que descansa por debajo de la curva.

En las siguientes discusiones de las dispersiones de los valores individuales de las variables continuas de una población, los rangos observados fueron considerados como una pobre medida de medición. A pesar de que la ojiva y la curva de probabilidad ayudan a mejorar la utilización o exactitud de las observaciones se necesitan un gran número de muestras para suministrar suficientes datos para los puntos que van a formar la curva y por lo tanto son de cierta manera subjetivos. ¿Que tan próximos están a la línea recta? El percentil de la distribución ayuda cuando uno maneja grandes números de muestras pero puede no tener significado con

pequeñas muestras o ser irrelevante en áreas como pruebas de competencia. Supongase, por ejemplo, que entre toda la gente certificada como tecnólogo por AALAS en cinco años, el 50% de ellos ha presentado calificaciones de certificación en el rango por debajo de las calificaciones medias de paso. Esta gráfica podría significar poco, debido a que todos los técnicos cuyos escores o calificaciones cayeron con el rango de pase fueron certificados, no importando donde cayó el rango de calificaciones.

Cuando se expresa un concepto numérico es necesario que se exprese la dispersión del conjunto de valores. Este concepto debe:

1. Considerar cada valor de la muestra.
2. Reconocer que la mayor parte de los valores están próximos a la media.
3. Considerar el tamaño de la muestra (cuantos valores hay en la muestra).
4. Reducir la influencia de los valores extremos.
5. Mostrar las diferencias mínimas entre grupos de muestras tomadas al azar de la misma población.

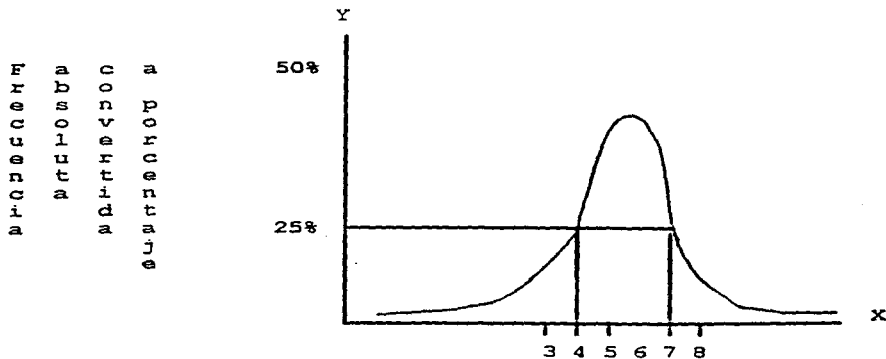


Figura 20.7 Percentiles de una distribución normal.

La figura 20.8 muestra una gráfica de 14 valores y sus variaciones o dispersión alrededor de la media. Podría parecer que una buena medida de dispersión podría ser la suma de las cantidades para las cuales los valores individuales difieren de la media. Desafortunadamente los estudios muestran que cualquier muestra de suficiente tamaño, tomada de una población con distribución normal, la suma de las diferencias individuales de la media es siempre cero o muy cercana al cero. Sin embargo, esta dificultad puede solucionarse considerando no los valores en sí, pero si el cuadrado de los valores. (Recuerde que el producto de dos números positivos y el producto de dos números negativos es siempre positivo, de ahí que el cuadrado de un número siempre es positivo). Si se suman los cuadrados de las desviaciones de la media, cada número y su magnitud se puede considerar. La suma de los cuadrados será mayor en muestras grandes y menor en muestras pequeñas, así para comparar dos cosas, se puede utilizar la cantidad promedio del cuadrado de la desviación. Esta cantidad promedio denominada la varianza de la muestra, se utiliza en estadística avanzada. En aplicaciones avanzadas de estadística la división de la suma de los cuadrados entre el número de los valores en la muestra ocasionalmente produce absurdos. Sin embargo, dividiéndola entre una menos que el número de valores en la muestra se evitan estos problemas. La varianza no deja de ser un número exagerado debido a que es la suma de los cuadrados. Esta exageración puede ser eliminada si se toman la raíz cuadrada positiva de la varianza; a esto se le llama la desviación estándar de la muestra. La desviación estándar ilustrada en la Figura 20.8 se calcula de la siguiente manera:

La varianza es igual a la suma de los cuadrados de las diferencias de la media, divididos entre el número de valores en la muestra, menos uno. Por lo tanto:

$$\text{varianza} = \frac{68}{14-1} = \frac{68}{13} = 5.23$$

Y dado que la raíz cuadrada de la varianza es igual a la desviación estándar, entonces:

$$\text{desviación estándar} = \sqrt{5.23} = 2.287$$



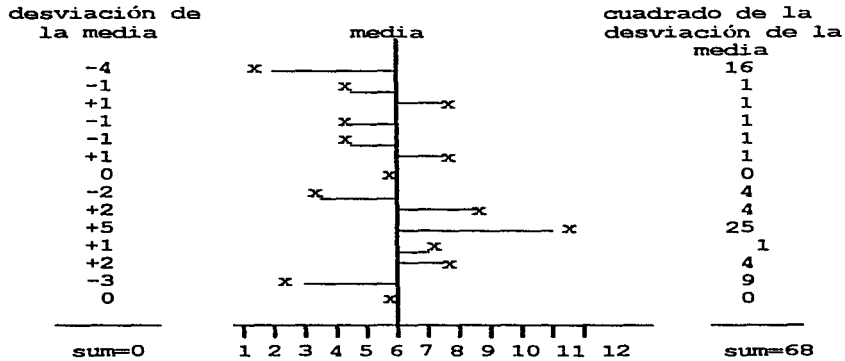


Figura 20.8 Un ejemplo de 14 valores y sus variaciones alrededor de la media.

Mientras que la media determina la posición de la campana de bell a lo largo del eje de las Xs, la desviación estándar no determina la forma de la curva. Una desviación estándar pequeña resulta en un escalón, una curva estrecha y una desviación estándar larga resulta en una curva ancha y aplanada (Fig.20.9). Para contrastar las pruebas, controlar las poblaciones y determinar la precisión de un estudio, es esencial la comprensión de la desviación estándar. Notese que la desviación estándar relaciona a la muestra y a la media de la muestra. Sin embargo, para comparar un grupo de observaciones con otro, se utiliza el error estándar de la media. El error estándar se calcula dividiendo la desviación estándar de una muestra de un grupo de observaciones entre la raíz cuadrada del número de observaciones de la muestra. El error estándar siempre es menor que la desviación estándar, lo cual ajusta con la intuitiva de que debe de haber menos variación entre muestras que dentro de las muestras.

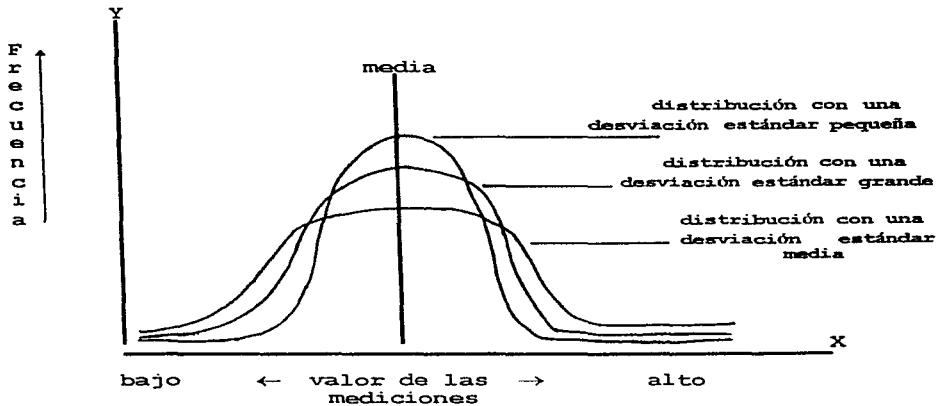


Figura 20.9 Distribución normal de tres curvas. Cada una tiene la misma media, pero su desviación estándar es diferente, la media determina la posición de la curva a lo largo del eje de las Xs, pero la desviación estándar determina la forma de la curva.

Regresemos a la idea de que el trazado de un lápiz sobre la curva de la distribución normal viajará sobre todas las áreas entre la curva y el eje de las Xs. Sin importar el número de unidades cuadradas de un área que pudieran estar representadas, el área puede arbitrariamente declararse que sea 1.0. Cuando el lápiz está en el punto sobre la curva que esta directamente sobre la media, una línea perpendicular del punto de la bisección al área bajo la curva. Entonces, la probabilidad de que un valor bajo la curva sea seleccionado al azar será igual o menor que la media es decir 0.5. Recuérdese, que la distribución normal es simétrica a la media y a la línea, la perpendicular no tiene área. Es entonces posible describir los valores a lo largo del eje de las Xs, pero no a los números de las unidades como puntos de intersección de la perpendicular que divide el área total. La Fig. 20.10 muestra una distribución normal con los dos caminos diferentes de identificar el eje de las Xs.

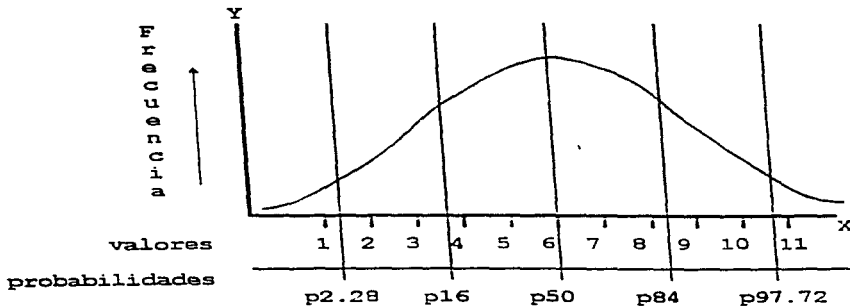


Figura 20.10 Una distribución normal con el eje de las Xs muestra tanto los valores y las probabilidades obtenidas de la proporción de las áreas que descansan bajo la curva hacia la izquierda de los valores basados sobre los datos de muestras sanguíneas dadas en esta sección del texto.

La probabilidad de que un valor sea seleccionado es igual o menor a un valor específico de la misma proporción del área total que descansa entre cero y el área específica. Más aún, la probabilidad de que un valor sea seleccionado es tan grande como un valor específico igual o menor que otro valor específico en la proporción del área total que descansa entre estos valores específicos.

La medición actual o cálculo del área bajo la curva es posible pero complicado, tedioso y para la mayor parte de los casos innecesario. Investigadores de otras generaciones descubrieron la relación entre la media, la desviación estándar y el área bajo la curva. Esta relación es una función de la variable  $Z$  y  $Z$  es simplemente el número o fracción de la desviación estándar agregado a la media por puntos hacia la derecha de la media o substraído de la media por puntos hacia la izquierda de la media. Las tablas de la distribución normal acumulada se pueden encontrar en la mayor parte de los libros de estadística y ejemplos de su uso se muestran en la Fig. 20.11 y la tabla 20.1.

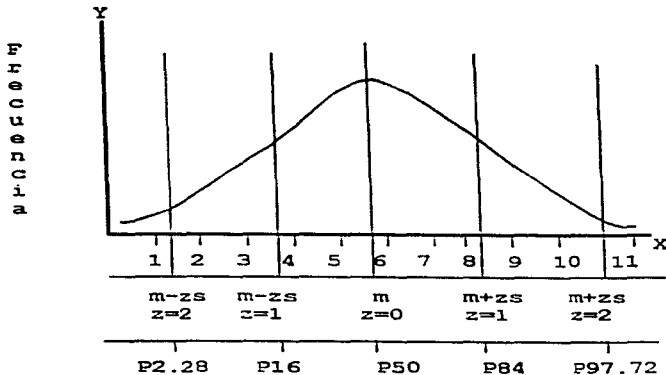


Figura 20.11 Basados en los datos proporcionados por la Fig. 20.8, ésta gráfica muestra una distribución normal, utilizando tres escalas de correlación sobre el eje  $X$  ( $m$  = media,  $s$  = factor,  $s$  = desviación estándar).

Tabla 20.1 Cálculos de varios valores de  $m + zs$  y las probabilidades correspondientes (léase las tablas) para los valores apropiados y signos de  $z$ .

Valores de $m - zs$ , utilizando datos de la Fig. 20.8	Probabilidad del área para los valores de la izquierda
$m + zs (z = 0) \quad 6.0 + 0 = 6.000$	$P = 0.5000$
$m + zs (z = 1) \quad 6.0 + 2.287 = 8.287$	$P = 0.8413$
$m - zs (z = 1) \quad 6.0 - 2.287 = 3.713$	$P = 0.1587$
$m + zs (z = 2) \quad 6.0 + 4.574 = 10.574$	$P = 0.9772$
$m - zs (z = 2) \quad 6.0 - 4.574 = 1.426$	$P = 0.0228$
$m + zs (z = 3) \quad 6.0 + 6.861 = 12.861$	$P = 0.9987$
$m - zs (z = 3) \quad 6.0 - 6.861 = 0.139$	$P = 0.0013$

Notese que la relación  $P = m + Zs$  es verdadera para todas las distribuciones normales. Sustituyendo los valores para  $m$  y  $s$  se producen valores apropiados para  $P$  en un estudio específico. Los cálculos muestran que el 99.74% [( $P = 0.9987 - P = 0.0013$ )  $\times 100$ ] de todos los valores de la Fig. 20.11 descansan entre  $-0.861$  y  $12.861$ . Esto explica por que es poco común explorar las colas de las curvas mucho más allá de tres desviaciones estándar. Para la mayor parte de los propósitos 99.74% es suficientemente próximo al 100%.

Si un valor estadístico como la media es medido sobre una muestra de un grupo de mediciones, es muy poco probable que el mismo valor exacto se obtenga de otra muestra. Por lo tanto es una práctica común hacer un enunciado que describa la precisión de la estimación (muestra estadística). Usando la distribución normal acumulada se puede encontrar el área de interés central (por ejemplo,  $> 0.95$  ó  $> 0.99$ , de esta manera se pueden leer los valores correspondientes a  $Z$ . Sustituyendo estos valores en  $m + zs$ , se crea un rango que es el intervalo de confianza, significa que hay una probabilidad de que el valor verdadero se encuentre entre  $m - zs$  y  $m + zs$ . Los valores de  $P$ , multiplicados por 100, se refieren como el nivel de confianza.

Revisemos los últimos párrafos utilizando los datos de la Tabla 20.1. Substrayendo  $P = 0.0228$  de  $P = 0.9772$  produce un área central, distribuida simétricamente con respecto a la media, de  $P = 0.9544$  y corresponden a los valores de  $z = \pm 2.0$ . Estos valores de  $P$  y de  $Z$  producen valores que dan un rango de  $1.426$  a  $10.574$  (el intervalo de confianza del ejemplo) con un nivel de confianza de

95.44% de probabilidad de que el valor verdadero de la media se encuentre entre estos rangos. Lo más común es utilizar un nivel de confianza de 95.0%.

Las relaciones entre P, Z, M y S son factibles únicamente con muestras de 40 o más mediciones. Para muestras pequeñas la prueba de T de student es la más comúnmente utilizada. El valor de esta variable está en función no únicamente del valor de P si no también del tamaño de la muestra. Específicamente, ésta varía con los grados de libertad, los cuales es uno menos el tamaño de la muestra (N-1). Cuando se buscan dentro de las tablas los valores de T, se busca la columna bajo el valor apropiado de P, después se lee hacia abajo para la columna opuesta al valor apropiado de los rangos de libertad para encontrar el valor relevante de T. Algebraicamente, en algunos de los ejemplos de este capítulo, T puede ser sustituido por Z, pero posiblemente se requiera una revisión para establecer el cálculo del número de grados de libertad.

### MUESTREO AL AZAR

La mayoría de los datos estadísticos asumen que las observaciones y las muestras fueron seleccionadas al azar. Existen dos diferencias fundamentales o dos métodos fundamentales para seleccionar al azar. El regresar el animal seleccionado a la población antes de seleccionar el siguiente animal se denomina muestreo con reemplazo. La selección del siguiente animal de una población que excluye animales previamente seleccionados es denominada muestreo sin reemplazo. El asignar los animales ya sea al grupo control o al grupo tratado se debe de realizar siempre al azar. La selección de los animales y su colocación dentro de los grupos es una tarea relativamente común para el técnico o para los tecnólogos. Existen al menos tres técnicas para realizar una distribución al azar.

1. Se puede utilizar un dado para decidir si un animal debe de ser colocado en un grupo control o en un grupo tratado. Se pueden etiquetar los números pares como grupo tratado y los números nones como grupo control. O viceversa, pero la elección debe ser consistente en este tipo de selección.
2. Se puede jugar con cartas utilizándolas para darles un código; por ejemplo corazones = grupo 1,, espadas = grupo 2, tréboles = grupo 3 y diamantes = grupo 4. Las cartas son barajadas cada vez, colocando a los animales en cada caja dentro del grupo codificado para la carta que se seleccionó. Si hay más de 13 animales para cada grupo, las cartas deberán barajarse hasta que suficientes animales hayan sido colocados.
3. La mayor parte de las computadoras personales pueden generar una tabla de números aleatorios; los números en realidad no son aleatorios pero son suficientemente impredecibles para los propósitos de selección.

4. Un método muy útil para la selección al azar es el usar las tablas de números aleatorios. Estas tablas están construidas para que los dígitos 0,1,2,...,9 se presenten aproximadamente en la misma frecuencia. Existen diferentes tablas de diferentes tamaños de grupos ya sean en pares o tríos. Las tablas de números al azar se pueden encontrar en la mayor parte de los libros de estadística.

### INFERENCIA ESTADÍSTICA

La ciencia moderna utiliza las estadísticas como un medio de descripción de un gran número de datos y para analizar datos con los cuales se pueden hacer generalizaciones. En otras palabras la estadística nos permite inferir generalizaciones a partir de poblaciones, basándonos en muestras de esta población.

Los errores de tipo falso positivo y falso negativo están muy relacionados con el trabajo científico y sirven para determinar la verdad. Los falsos positivos se les llama cuando se acepta algo como verdadero cuando en realidad es falso y los falsos negativos es cuando se acepta como falso algo que en realidad es verdadero. Se puede decidir con anticipación los niveles de error aceptables, entonces el trabajo puede ser hecho con un cierto rango; por ejemplo, con un 95% del límite de confianza. Esto significa que en promedio una de cada 20 veces las conclusiones serán equivocadas. Notese que una vez en 20 no significa la vigésima parte, pero si que un número infinito de replicas pueden hacerse del mismo estudio, una de veinte veces las conclusiones podrán ser equivocadas. Para trabajar con un coeficiente de confianza de 100% se necesita una absoluta rectitud y una absoluta carencia de errores en el experimento, en realidad ningún trabajo humano puede caer en este sentido.

El nivel de confianza seleccionado relaciona las consecuencias de la equivocación. Una dieta para bajar de peso que no produce pérdida de peso es decepcionante pero no desastrosa; el 95% de confianza puede ser en este caso muy aceptable. Sin embargo, en 1 de 20 oportunidades de que una solución inyectable no es estéril es francamente inaceptable.

Muchos experimentos trabajan con datos apareados, como el peso del cuerpo y la altura, de ahí que una variable cambie en función de la otra. Esto es el peso está en función de la altura. En este ejemplo, la altura es la variable independiente y el peso es la variable dependiente. De ahí que sea absurdo el argumento de "Yo no tengo sobrepeso, simplemente soy muy bajito".

Otro uso de los datos apareados es la prueba en la que hay una causa y un efecto; por ejemplo, los datos apareados muestran el número de semanas sobre una dieta para bajar de peso y el peso corporal en ese tiempo. Estos son llamados estudios de correlación y pueden ser muy utilizados, pero debe cuidarse de la trampa que ocurre cuando dos variables son el efecto de una causa común. Esto puede mostrarse en los pueblos del norte de Europa donde hay una correlación directa entre el número de hijos nacidos en un pueblo y el número de nacimientos registrados en los pueblos.

Esto no es un fenómeno de causa y efecto pero si reflexionamos sobre las observaciones de que los poblados tienen más casas, más chimeneas, más nidos para cigüeñas, más familias y por lo tanto más bebés que en los pueblos pequeños.

La interacción entre drogas puede estudiarse, por ejemplo, para preguntarse si el efecto o no de dos drogas es independiente, aditivo, antagonista o sinérgico. Este tipo de estudios requiere que las pruebas y controles relacionen dos tratamientos experimentales. (Los estadísticos utilizan la palabra tratamiento para referirse a la acción y no terapéutica). Este tipo de estudios puede ser como el que se muestra en la Tabla 20.2. El grupo 1 muestra el efecto de la droga A y B juntas. El grupo 2 muestra el efecto de la droga B sola. El grupo 3 muestra el efecto de la droga A sola. El grupo 4 muestra el efecto de los placebos.

Tabla 20.2 Diseño de un experimento factorial.

	Droga A	Placebo
Droga B	Grupo 1	Grupo 2
Placebo	Grupo 3	Grupo 4

La mayor parte de los experimentos son realizados para probar una idea o hipótesis. Es frecuente sorprender al novato cuando aprende que uno no puede concluir una prueba, más allá de una duda razonable en una hipótesis. Esta falta de certeza se debe al hecho de que cualquiera que sea la observación realizada existe una probabilidad del azar en el tratamiento experimental. La probabilidad de que las observaciones fueran debidas al azar debe de ser calculada. Si las probabilidades fueran extremadamente pequeñas se podría concluir que la causa puede ser el tratamiento experimental. ¿Donde se pinta la línea de demarcación?. Esta se marca a nivel de la confianza decidida previamente. La mayor parte. La mayor parte de los estudios biomédicos trabajan con un coeficiente de confianza de 95-99%.

En vista del factor del azar, una hipótesis frecuentemente se parafrasear de manera que parece ser lo opuesto a lo que se intenta. Por ejemplo, para probar la idea de que la fuente de proteína A produce más rápida ganancia de peso que la fuente de proteína B, la hipótesis puede ser parafraseada así: "La fuente de proteína A produce la misma ganancia de peso que la fuente de proteína B". Se intenta entonces descartar la hipótesis.



Parafraseando la hipótesis de esta manera se producen varios beneficios. Por ejemplo, una estimación de la ganancia media de peso corporal puede ser utilizada para ambas fuentes de proteínas. Así mismo, la hipótesis establece la posibilidad de que la fuente de proteína A produzca menos ganancia corporal.

Este parafraseo es una aplicación específica de la hipótesis nula, la cual establece que no hay diferencias significativas entre los grupos del estudio y de que cualquier diferencia observada se debe exclusivamente al azar. Dado de que la probabilidad de que el azar sea calculado, la hipótesis nula puede ser aceptada o rechazada basándose en el nivel de confianza previamente establecido. Por supuesto, si la hipótesis nula es rechazada, la hipótesis alterna debe de aceptarse, lo cual es que las diferencias observadas se deben a otros factores más que al azar.

La idea de la hipótesis nula no es también poco común para otros campos de la ciencia. La idea de que el acusado es inocente hasta que se pruebe su culpabilidad es una hipótesis nula. Notese que la culpabilidad debe ser probada más allá de la duda razonable. Si el acusado es dejado libre, esto no significa que él o ella no eran realmente inocentes y algunas veces la gente inocente también puede ser encarcelada.

Mientras que muchos experimentos están diseñados para detectar diferencias significativas entre la media de los grupos experimentales, otras mediciones también pueden ser valiosas. Por ejemplo, considérese dos técnicas para determinar el conteo total de células blancas. Los datos experimentales muestran que no existen diferencias significativas en la media producidas por cualquiera de los dos métodos, pero un método muestra una desviación estándar mucho más pequeña que el otro método. Por lo tanto se puede concluir que un método puede ser preferible a otro, dado de que contribuye con menos variaciones a las observaciones que el otro tipo de estudio.

#### TAMAÑO DE LA MUESTRA

Existe una preocupación considerable, tanto dentro de la comunidad científica como en la sociedad, acerca del tamaño, del grupo o número de animales que debe ser utilizado en una investigación. Tanto el sentido común como el humanitario resultado de esta preocupación, debe satisfacer también las necesidades de la ciencia. ¿Cuántos animales se necesitan para comparar un grupo control contra un grupo tratado? ¿Cuántos animales se requieren? ¿Diez?, quizás pero en este punto se desconoce. ¿Como se puede precisar esto? ¿Cuán sensible se deberá hacer la prueba? ¿Cual será el nivel de confianza que se seleccione?. Todas estas preguntas deben de considerarse junto con otras, antes de decidir cuantos animales se utilizarán en el experimento.

Una ecuación que da el número de animales requeridos para un grupo es:

$$N = \frac{(zs)^2}{d^2}$$

Donde:

N = el número de animales en un grupo.

z = el número de desviaciones estándar de la media (z es una función del nivel de confianza).

s = a la desviación estándar (una medición de precisión).

d = La diferencia de las medias entre los grupos control y tratado (una medida de sensibilidad de la prueba, entre más pequeño sea el valor de d, mayor será la sensibilidad).

Si N contiene una fracción, esta debe ser redondeada al siguiente número. Cualquier reducción en N debe necesariamente reducir la sensibilidad, precisión o nivel de confianza, o cualquier combinación relacionada para esta prueba. Desafortunadamente, cualquier incremento no calculado de N probablemente no produzca un incremento valioso en la sensibilidad, precisión o confianza.

El valor de N se refiere al número de animales al término del experimento, no necesariamente el número que iniciaron. Si el procedimiento experimental es poco riesgoso para la vida, N puede ser incrementada a uno para prevenir accidentes, escapes u otros errores técnicos. Si sin embargo, el procedimiento es riesgoso o fácil de que se produzcan errores técnicos, N debe de ser incrementada por la cantidad que proporcionará un número apropiado de animales para el fin del experimento. Finalmente la cantidad para la cual N es designada es cuestión de un juicio con experiencia y profesionalismo. Otras ecuaciones pueden ser apropiadas para otro tipo de diseños. El principal punto es que la decisión para utilizar cierto número de animales debe de provenir de un proceso científico y un juicio profesional. No debe de basarse en cubrir deficiencias de la técnica o de cuidados inapropiados.

Una importante conclusión de todo lo discutido, es que el momento en que se debe de aplicar la estadística en el caso de animales de laboratorio es durante el diseño del experimento, antes de que se establezca el protocolo.

Durante el desarrollo del experimento debe recordarse constantemente el hecho de que se maneje al azar y de que se eliminen los riesgos. Entonces al final del experimento, se habrá contribuido al futuro del bienestar de la humanidad y de otros animales sobre la tierra.

## ANALISIS DE LA INFORMACION

En diferentes tipos de manuales, textos y artículos publicados en revistas científicas, técnicas y de difusión se describen detalladamente los procedimientos básicos y necesarios para el adecuado cuidado y uso de los animales sujetos a experimentación científica. Sin embargo la mayor parte de estos documentos se encuentran escritos en idioma inglés y tienen muy reducida circulación en México. En el caso de los documentos escritos en español, su edición se ha limitado a publicaciones con escaso contenido de información, así como también a publicaciones sin edición o tiraje suficiente para permitir su disseminación o uso por la población objetiva. Finalmente la mayoría de esos documentos tanto en inglés como en español han sido redactados para público con formación universitaria, por lo que son técnicamente inaccesibles para el personal a cargo del cuidado de los animales en bioterios del país, los cuales tienen como promedio de escolaridad, de primaria a secundaria (10 ).

## LITERATURA CITADA.

## INTRODUCCION

- 1.- American Association for Laboratory Animal Science: Syllabus for the Laboratory Animal Technologist. AALAS, Cordova, T.N. U.S.A., 1972.
- 2.- American Association for Laboratory Animal Science: Manual for Laboratory Animal Technicians. AALAS, Illinois, U.S.A., 1984.
- 3.- American Association for Laboratory Animal Science: Training Manual Series: Assistant Laboratory Animal Technician. AALAS, Cordova, T.N. U.S.A., 1989.
- 4.- American Association for Laboratory Animal Science: Training Manual Series: Laboratory Animal Technician. AALAS, Cordova, TN. U.S.A., 1990.
- 5.- American Association for Laboratory Animal Science: Training Manual series: Laboratory Animal Technologist. AALAS, Cordova, TN. U.S.A., 1991.
- American Association for Laboratory Animal Science: Training Manual Series. Vol. I, II y III. Edited by Stark M, D. y Ostrow, E.M. AALAS, E.U., 1991.
- 6.- American Association for Laboratory Animal Science: Training Manual Series. Vol. I, II y III. Edited by Stark M, D. y Ostrow, E.M. AALAS, E.U., 1991.
- 7.- American Association for Laboratory Animal Science: Membership 1994 Directory. AALAS, E.U., 1994.
- 8.- Arrellin, R.G.: Programa integral de producción, adquisición y mantenimiento de animales de laboratorio destinados a la investigación científica en el Instituto de Investigaciones Biomedicas. Tesis. Fac. Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F. 1990.
- 9.- Asociación Mexicana para el Estudio de los Animales de Laboratorio A.C.: Actualización en Manejo y Producción de los Animales de Laboratorio. Universidad Autónoma Metropolitana de Xochimilco, México D.F. 1990.
- 10.- Castillo, R.M.R. y Villalobos O. G.: Estudio comparativo de la situación actual de los bioterios en México. Tesis. Fac, Estudios Superiores Cuautitlan. Universidad Nacional Autónoma de México, Cuautitlán Izcalli, México. 1987.
- 11.- Departamento de Investigación Experimental y Bioterio: Reglamento para la Obtención, Mantenimiento y Empleo de Animales para la Investigación. División de Investigación Básica. Instituto Nacional de la Nutrición, México D.F. 1994.

12.- Examination Board: Alternative Syllabus for the Associateship Diploma. The Institute Animal Technology. Warwick, England, 1985.

13.- García, C.R. y Hernández V. R. J.: Manejo de los Animales de Laboratorio en el Bioterio de la Unidad de Investigación en Salud Infantil del Instituto Nacional de Pediatría. Instituto Nacional de Pediatría, México D.F. 1994.

14.- Hernández, G. R. y Hernández, E. J.: Análisis bibliométrico de las características de los roedores y lagomorfos utilizados en investigaciones publicadas en México, 1980-1989. Vet. Mex., 25-2: 149-153 (1994).

15.- Hernández G.R. y Howard B.: Modulo IV. Factores que Conforman el Medio Ambiente de los Animales de Laboratorio y su Control. Fac. Med. Vet. y Zoot. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey N.L. 1994.

16.- Jefatura de Enseñanza e Investigación y Jefatura de Cirugía Experimental y Bioterio: Manual de Animales de Laboratorio. Instituto Mexicano del Seguro Social. Fac. Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F. 1986.

17.- Laboratory Animal Science Association: Laboratory Animal Handbooks 2. Dietary Standards for Laboratory Rats and Mice. Laboratory Animals LTD, London 1969.

18.- Martínez, C.M.A.: Manual para el cuidado y utilización de los animales de laboratorio: ratas, ratones, y conejos. Tesis. Fac. Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F. 1984.

19.- P.M.I. Feeds, Inc.: Laboratory Animal Care. Course: Lab. Diet. P.M.I. Feeds, Inc. 1994.

20.- American Association for Laboratory Animal Science: Membership 1994 Directory. AALAS, E.U., 1994.

21.-The LASA Seminar for training: Options for training, LASA, Tamworth, England, 1994.

22.- UFAW. The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals. 6th. ed. Longman Scientific and Technical. London 1987.

#### LECTURAS COMPLEMENTARIAS SIUICI

1. Cohen, B.J. "The Early History of Animal Experimentation and Animal Care." I. Antiquity. Lab. Anim. Sci. 9:39-45, 1959.

2. Cohen, B.J. and Coew, F.M. Laboratory Animal Medicine: Historical Perspectives. Academic Press, Inc., Orlando, 1984.

3. Flynn, R.J. "The Founding and Early History of the American Association for Laboratory Animal Science." Lab. Anim. Sci. 30(4, Part II): 765-779, 1980.

4. Fox, M.A. The Case for Animal Experimentation-An Evolutionary and Ethical Perspective. University of California Press, Los Angeles, 1986.

5. Giannattai, V.M. and Anderson, J.G. Animal Health Technology and Veterinary Nursing in North America. Dillon-Tyler Publishers, Napa, California, 1985.

6. Harrel, G.T. et al. The Future of Animals, Cells, Models, and Systems in Research, Development, Education, and Testing. National Academy of Sciences, Washington, D.C., 1977.

7. Phifer, D.C. "Why Technician Training is Important. The Effects of the GLPs and Research Modernization on the Technician in Industry." Lab. Anim. 9:43-45, Sept./Oct. 1980.

8. Sechzer, J.A., ed. "The Role of Animals in Biomedical Research," Vol. 406, Annals of the New York Academy of Sciences, New York, 1983.

#### LECTURAS COMPLEMENTARIAS SIU1C2

1. Animal Welfare Act. P.L. 89-544. Deputy Administrator, USDA, APHIS-VS, 6505 Belcrest Rd., Hyattsville, MD 20782.

2. Code of Federal Regulations, 1984. Titles 10, 29, 40. Office of Federal Register, Washington, D.C., available from the Deputy Administrator, USDA, APHIS-VS, Belcrest Rd., Hyattsville, MD 20782.

3. FDA Good Laboratory Practices for Non-Clinical Laboratory Studies. Department of Health, Education, and Welfare, 1978.

4. Fudin, C.E. "Enhancing Client and Co-worker Relations." Veterinary Technician, 7(2):63, February 1986.

5. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. National Institutes of Health. NIH Publication number 85-23, 1985.

6. Hirschberg, R.E. "The Real Importance of the Qualified Technician." The Compendium on Continuing Education, 2(6):290. November/December 1981.

7. "Regulation Watch: The Guide, A Comparison of the 1978 and 1985 Editions." Lab. Anim. 15(4):45-51, May/June 1986.

#### LECTURAS COMPLEMENTARIAS SIU2C4

1. Frandson, R.D. Anatomy and Physiology of Farm Animals, Fourth Edition. Lea and Febiger. Philadelphia, 1986.

2. Storer, T.I., et al. General Zoology. McGraw Hill, New York, 1972.

3. Walker, W.F. Vertebrate Dissection, Fourth Edition. Saunders Co. Philadelphia, 1970.

**LECTURAS COMPLEMENTARIAS SIU2C5**

1. Anthony, D.P. and Kolthoff, N.J. Textbook of Anatomy and Physiology, Eighth Edition. C.V. Mosby Co., St Louis, 1971.
2. Berne, R.M. and Levy, M.N. Physiology. C.V. Mosby Co., St. Louis, 1983
3. Frandson, R.D. Anatomy and Physiology of Farm Animals, Fourth Edition. Lea and Febiger, Philadelphia, 1985.
4. Storer, T.I., et al. General Zoology. McGraw Hill, New York, 1972.
5. Walker. W.F. Vertebrate Dissection, Fourth Edition. W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1970.

**LECTURAS COMPLEMENTARIAS SIU2C6**

- 1.- Church, D.C. and Pond, W.G. Basic Animal Nutrition and Feeding, Second Edition. Jhon Wiley and Sons, New York, 1974.
- 2.- Frandson, R.D. Anatomy and Physiology of Farm Animals, Fourth Edition. Lea and Febiger, Philadelphia, 1986.
- 3.- Jurgens, M.H. Applied Animal Feeding and Nutrition-An Outline, Third Edition. Dendall/Hunt Publishing Co. Dubuque, Iowa, 1974.
- 4.- Morrison, F.B. Feeds and Feeding, 22nd Edition. Morrison Publishing Co., Clinton, Iowa, 1959.
- 5.- Gillespie, J. Animal Nutrition and Feeding. Delmar Publishers Inc., Albany, 1987.

**LECTURAS COMPLEMENTARIAS SIU3C7**

- 1.- Hafez, E.F.E., ed. Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals. Lea and Febiger, Philadelphia, 1970.

**LECTURAS COMPLEMENTARIAS SIU3C8,C9**

- 1.- Green, E., ed. Biology of the laboratory Mouse, 2nd Ed. Dover Publications, Inc., New York, 1975.
- 2.- Inglis, J.K. Introduction to Laboratory Animal Science and Technology. Pergamon Press. Oxford. 1980.

**LECTURAS COMPLEMENTARIAS SIU3C10**

1. Fox, J.G., Cohen, B.J., and Loew, F.M., eds. Laboratory Animal Medicine. Academic Press, Orlando, Florida, 1984.
2. Hafez, E.S.E. Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals. Lea and Febiger, Philadelphia, 1970.
3. Wagner, J.E. and Manning, F.J., eds. The Biology of the Guinea Pig. Academic Press, Orlando, Florida, 1976.
4. Van Hoosier, B.L. and McPherson, C.W., eds. Laboratory Hamsters. Academic Press, Orlando, Florida, 1987.



**LECTURAS COMPLEMENTARIAS SIU3C11**

1. Hafez, E.S.E. Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals. Lea and Febiger Philadelphia, 1970.
2. Harkness, J.E. and Wagner, J.E. The Biology and medicine of Rabbits and Rodents. Lea and Febiger, Philadelphia, 1977.
3. Weisbroth, S.H., Flatt, R.E., and Kraus, A.L., eds. The Biology of the Laboratory Rabbit. American College of Laboratory Animal Medicine Series. Academic Press, Orlando, Florida, 1974.

**LECTURAS COMPLEMENTARIAS SIU3C12**

1. Catcott, E.J. Feline Medicine and Surgery. American Veterinary Publications, Inc., Wheaton, Illinois, 1975.

**LECTURAS COMPLEMENTARIAS SIU3C13**

1. Anderson, A.C. The Beagle as an Experimental Dog. Iowa State University Press, Ames, Iowa, 1970.
2. Schumacher, H. and Strasser, W. "Breeding Dogs for Experimental Purposes." J. Small Anim. Prac. 9:597-602, 1968.

**LECTURAS COMPLEMENTARIAS SIU3C14**

1. Whitney, R.A., Johnson, D.I., and Cole, W.C. Laboratory Primate Handbook. Academic Press, Orlando, Florida, 1973.

**LITERATURAS COMPLEMENTARIAS SIU4C15**

- 1.- Guide to the Care and Use of Experimental Animals, Vol. 1, Canadian Council on Animal Care, 1980.
- 2.- Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. National Institutes of Health. NIH Publication number 86-23, 1985.

**LECTURAS COMPLEMENTARIAS SIU4C16,C17**

- 1.- Guide to the Care and Use of Experimental Animals, Vols. 1 and 2. Canadian Council on Animal Care, Ottawa, Ontario. 1980.
- 2.- Comfortable Quarters for Laboratory Animals. Animal Welfare Institute, P.O. Box 3650, Washington, D.C. 20007, revised 1979.
- 3.- Laboratory Animal Housing. Institute of Laboratory Animal Resources, Division of Biomedical Sciences, Assembly of Life Sciences, National Academy of Sciences, Washington, D.C., 1978.
- 4.- National Institutes of Health Biohazards Safety Guide. Environmental Services Branch, Division of Research Services. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C. 20402, 1974.

**LECTURAS COMPLEMENTARIAS SIU5C18,C19**

- 1.- Fox, J.G., Cohen, E.J., and Luew, F.M. Laboratory Animal Medicine, Academic Press, Inc., New York, 1984.
- 2.- Harkness, J.E. and Wagner, J.E. The Biology and Medicine of Rabbits and Rodents. 2nd Ed. Lea and Febiger, Philadelphia, 1983.

**LECTURAS COMPLEMENTARIAS SIU5C20**

- 1.- Fox, J.G., Cohen, B.J., and Loew, F.M. Laboratory Animal Medicine, Academic Press, Inc., New York, 1984.
- 2.- Harkness, J.E., and Wagner, J.E. The Biology and Medicine of Rabbits and Rodents, 2nd Ed. Lea and Febiger, Philadelphia, 1983.
- 3.- Holmes, D.D. Clinical Laboratory Animal Medicine. Iowa State University Press, 1984.
- 4.- Weber, A.J. Veterinary Pharmaceuticals and Biologics-1987/1988. Veterinary Medicine Publishing Co., Lanexa, Kansas, 1986.
- 5.- Williams, C.S.F. Practical Guide to Laboratory Animals. C.V. Mosby Co., St. Louis, 1976.

**LECTURAS COMPLEMENTARIAS SIU6C21**

- 1.- Dornette, W. Central Service Technical Manual. International Association of Hospital Central Service Management, Chicago, 1981, pp. 19-98.
- 2.- Hurov, L. Handbook of Veterinary Surgical Instruments and Glossary of Surgical Terms. W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1978, pp. 7, 23-24. 65-66.
- 3.- Winsett, K. "Post-Operative Care of Surgical Instruments," Part I and II. Animal Health Technical Journal, 4(5):130- 135. 4(4):189-193. 1983.

**LECTURAS COMPLEMENTARIAS SIU6C22**

- 1.- "1986 Report of the AVMA Panel on Euthanasia." J. Am. Vet. Med. Assoc. 198(3):252-260, 1986.
- 2.- Fox, J.G., Cohen, B., and Loew, F.M. Laboratory Animal Medicine Academic Press, Orlando, Florida, 1984.

**LECTURAS COMPLEMENTARIAS SIU6C23**

- 1.- Scher, S. "Setting Up an Animal Experiment." Vet. Tech. 7(5):217-220, May 1986.

**LECTURAS COMPLEMENTARIAS S2U1C1**

1. Animal Welfare Act of 1966 (Public Law 89-544), and all subsequent amendments. (Copies available from USDA-APHIS, 2568A River Rd., Suite 206, Annapolis, MD 21410.)
2. Cohen, B.J. "The early history of animal care. I. Antiquity." Lab. Anim. Sci. 9:39-45, 1959.
3. "The Complete Guide to Lawsuit Free Hiring: Getting the Right Person for the Right Job." Modern Business Reports. Alexander Hamilton Institute, New York, 1986.
4. Cutlip, S.M., Center, A.H., and Broom, G.M. Effective Public Relations, Sixth Ed. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey, 1985.

5. Drucker, P.F. Management: Tasks, Responsibilities, Practices. Harper and Row, New York, 1974.

6. Francis, P.H. Principles of R&D Management, 1st ed. AMACOM, New York, 1977.

7. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. NIH Publication No. 86-23. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C., 1986.

8. Public Health Service Policy on Humane Care and Use of Laboratory Animals. OPRR, NIH, Bethesda, Maryland, 1986 (copies available from OPRR, 9000 Rockville Pike, Bldg. 31 Rm. 4B09, Bethesda, MD 20892).

9. "Recommendations for Governance and Management of Institutional Animal Resources." Association of American Medical Colleges, Association of American Universities, One Dupont Circle, N.W., Washington, D.C. 20036, 1985.

10. Reinecke, J.A., and Schoell, W.F. Introduction to Business: A Contemporary View. 4th ed. Allyn & Bacon: Boston, 1983.

11. Smith, R.V. Development and Management of Research Groups - A Guide for University Researchers. University of Texas Press, Austin, Texas, 1980.

#### LECTURAS COMPLEMENTARIAS S2U2C2

1.- NIH Cost Analysis and Rate Setting Manual for Animal Resources. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. NIH Publication number 802006, revised 1979.

#### LECTURAS COMPLEMENTARIAS S2U1C3

1.- Animal Welfare Act of 1966 (Public Law 89-544), and all subsequent amendments. (Copies available from USDA-APHIS, 2568A River Rd., Suite 206, Annapolis, MD 21410).

2.- Green, K.A., and Clifford, D.H. "Security in the Research Laboratory, Part 1 - Perimeter and Internal Control." Lab. Anim. 15(2): 22-38, March 1986.

3.- Green, K.A., and Clifford, D.H. "Security in the Research Laboratory, Part 2 - Communications, Personnel, and Publicity." Lab. Anim. 15(3):23-30, April, 1986.

#### LECTURAS COMPLEMENTARIAS S2U2C4

1. Guyton, A.C. Textbook of Medical Physiology. W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1986.

2. Swenson, M.J., ed. Duke's Physiology of Domestic Animals 10th Ed. Cornell University Press. Ithaca, New York, 1984.

#### LECTURAS COMPLEMENTARIAS S2U2C5

1. Baker, H.J., Lindsey, J.R., and Weisbroth, S., eds. The Laboratory Rat, Vol. I. Academic Press, Orlando, Florida, 1980.

2. Bloom, W., and Fawcett, D.W. A Textbook of Histology, 10th Ed. W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1975.
3. Cheeke, P.R. Rabbit Feeding and Nutrition. Academic Press, Orlando, Florida, 1987.
4. Evans, H. and de Lahunta, A. Miller's Guide to the Dissection of the Dog, 2nd Ed. W.B. Saunders Co., Philadelphia, PA. 1980.
5. Foster, H., Small, J.D., and Fox, J., eds. The Mouse in Biomedical Research, Vol. III. Academic Press, Orlando, Florida, 1983.
6. Nutrient Requirements of Dogs. Committee on Animal Nutrition, Board of Agriculture, National Research Council, National Academy Press, Washington D.C., 1985.
7. Van Hoosier, G., and McPherson, C., eds. The Laboratory Hamster. Academic Press, Orlando, Florida, 1987.
8. Wagner, J., and Manning, P., eds. The Biology of the Guinea Pig. Academic Press, Orlando, Florida, 1976.
9. Weisbroth, S., Platt, R., and Kraus, A., eds. The Biology of the Laboratory Rabbit. Academic Press, Orlando, Florida, 1974.
10. Wolfe, S.L. Biology of the Cell, 2nd Ed. Wadsworth Publishing Co., Belmont, California, 1981.

#### LECTURAS COMPLEMENTARIAS S2U3C6

1. Gnotobiotics, Standards and Guidelines for the Breeding, Care and Management of Laboratory Animals. Institute for Laboratory Animal Resources, Washington, D.C., 1970.
2. Green, E.L. "Breeding Systems." In Biology of the Laboratory Mouse. The Blakiston Division, McGraw-Hill Book Co., New York, 1966.
3. Hafez, E.S.E., ed. Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals. Lea and Febiger, Philadelphia, 1970.
4. Kimura, M., and Crow, J.F. "On the Maximum Avoidance of Inbreeding." Gen. Res. 4:399-415, 1963.

#### LECTURAS COMPLEMENTARIAS S2U3C7

1. Animal Welfare Act of 1966 (Public Law 89-544), and all subsequent amendments. (Copies available from USDA-APHIS, 2568A River Rd., Suite 206, Annapolis, MD 21410.)
2. Burt, W.H. A Field Guide to Mammals, Third Ed. Houghton Mifflin Co., Boston, 1976.
3. Care and Management of Laboratory Animals. TB MED 255/NAVMED P to S103/ARM 163 to 5:75, 1971.
4. Cohn, D.L. et al. "Parasites of the Laboratory Woodchuck (Marmota flaviventris)." Lab. Anim. Sci. 36:298-302, 1986.

5. Fine, J., Quimby, F.W., and Greenhouse, D.D. "Annotated Bibliography on Uncommonly Used Laboratory Animals: Mammals." ILAR News. 29:3a, 1986.
6. Fox, J.G., Cohen, E.J., and Loew, F.M., Laboratory Animal Medicine. Academic Press, Orlando, Florida, 1984.
7. Fox, J.G., Biology and Diseases of the Ferret. Lea and Febiger, Philadelphia, 1988.
8. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. NIH Publication No. 86-23. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C., 1986.
9. Hafez, E.S.E. Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals. Lea and Febiger, Philadelphia, 1970.
10. Lavine, S. The Woodchucks. Dodd and Mead, New York, 1984.
11. Martin, D.A. "Bone Marrow Depression Associated with Prolonged Estrus in the European Polecat or Fitch Ferret." Vet. Tech. 7:323-327, 1986.
12. Nutrient Requirements of Laboratory Animals. The National Research Council, National Academy of Sciences, Washington, D.C., 1978.
13. Poole, T.B., ed. The UFAW Handbook on the care & Management of Laboratory Animals, Sixth Edition, Churchill Livingstone, Inc., New York, 1987.
14. Snober, W. The Lives of Bats. ARCO Publishing Co., New York, 1984.
15. Smith L.L., The Amazing Armadillo. University of Texas Press, Austin, Texas, 1984.
16. Vandeberg, J.L., Cothran, E.G., and Kelley, C.A. "Dietary Effects on Hematologic and Serum Chemical Values in Gray Short-Tailed Opossums (*Monodelphis domestica*)." Lab. Anim. Sci. 36:32-36, 1986.
17. Ward, C.D. A Laboratory Study Concerning the Use of Sodium Monofluoroacetate (Compound 1080) as a Rodenticide for Black-Tailed Prairie Dogs (*Lynomys ludovicianus*). M.S. Thesis, South Dakota State University, Brookings, South Dakota, 1985.
18. Whitaker, J.D., Jr. The Audubon Society Field Guide to North American Mammals. Alfred A. Knopf, New York, 1980.

#### LECTURAS COMPLEMENTARIAS S2U4C8

1. FDA Good Laboratory Practices for Non-Clinical Laboratory Studies. U.S. Department of Health and Human Services, 1978.
2. PHS Policy on Humane Care and Use of Laboratory Animals (Rev. Sept. 1986). Office for Protection from Research Risks, NIH, Bethesda, Maryland.
3. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (Rev. 1985) NIH Publication No. 85-23.

4. "Biology and Diseases." In: The Laboratory Rat, Vol. 1. Baker, H.J., Lindsey, J.R., and Weisbroth, S.H., eds. Academic Press, Orlando, Florida, 1979.

5. ICLAS Manual for Genetic Monitoring of Inbred Mice. Nomura, T., Esaki, K., and Tomita, T., eds. University of Tokyo Press, Tokyo, Japan, 1984.

6. Festing, M. "Mandible Measurement." In: ICLAS Manual for Genetic Monitoring of Inbred Mice. Nomura, T., Esaki, K., and Tomita, T; eds. University of Tokyo Press, Tokyo, Japan, 1984.

7. Charles River Laboratories, Technical Bulletin, Charles River Laboratories, Wilmington, Massachusetts, Winter, 1990.

8. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 16th. Ed. American Public Health Association, Washington, D.C.

9. "Nutrient Requirements of Rabbits" In: Nutritional Requirements of Domestic Animals. National Academy of Sciences, Washington, D.C.

10. Stark, D.M. "A Quality Assurance Program for Laboratory Animal Diagnostic Facilities" Lab. Animal 13(3): 25-31, 1984.

#### **LECTURAS COMPLEMENTARIAS S2U4C9**

1. American National Standards Practices for Respiratory Protection. American National Standards Institute, Z 88.2, 1980.

2. American Red Cross Multimedia First Aid-Workbook. American Red Cross, Washington, D.C., 1987.

3. Biological Safety Manual for Research Involving Oncogenic Viruses. National Cancer Institute, Washington, D.C. DHEW Pub. No. (NIH) 76-1165, 1974.

4. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Centers for Disease Control and National Institutes of Health. HHS Pub. No. (NIH) 88-8395, 1988.

5. Bland, S.M., Evans, R., and Rivera, J.C. "Allergy to Laboratory Animals in Health Care Personnel." Occupational Medicine: State of the Art Reviews. 2(3):525-546, 1987.

6. Code of Federal Regulations: Title 10, Energy. Part 20.306.

7. Documentation of the Threshold Limit Values for Substances in Workroom Air, and Supplemental Documentation. TVL Airborne Contaminants Committee, American Conference of Industrial Hygienists, Cincinnati, Ohio.

8. Guidelines for Research Involving Recombinant DNA Molecules. National Institutes of Health. In: The Federal Register. 49(227):66266-46291, 1984.

9. Guidelines for Research Involving Recombinant DNA Molecules. National Institutes of Health. In: The Federal Register. 51:16958-16985, 1986.

10. Identification, Classification and Regulation of Potential Occupational Carcinogens. The Federal Register. 22(45):5015, 1980.
11. Klein, R.C., Party, E., and Gewrshey, E.L. "Virus Penetration of Examination Gloves." Biotechniques. 8(6):1-4, 1990.
12. Klein, R.C. et al. "Practical Radiation Shielding for Biomedical Research." Radiation Protection Management. 7(3):30-37, 1990.
13. Laboratory Safety Monograph. A Supplement to the NIH Guidelines for Recombinant DNA Research. DHEW, 1979.
14. National Cancer Institute Safety Standards for Research Involving Oncogenic Viruses. National Cancer Institute, Washington, D.C. DHEW Pub. No. (NIH)78-790, 1974.
15. NIH Guidelines for the Laboratory Use of Chemical Carcinogens. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health, Washington, D.C.
16. Standard First Aid and Personal Safety, 2nd Ed. Doubleday Publishers, Garden City, New York, 1979.
17. TVLs: Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents in the Workroom Environment with Intended Changes. TVL Airborne Contaminants Committee, American Conference of Industrial Hygienists, Cincinnati, Ohio (published annually).

#### LECTURAS COMPLEMENTARIAS S2U4C10

1. Disinfection, Sterilization and Preservation. Lawrence, C.A., and Bock, S.S., eds. Lea and Febiger, Philadelphia, 1968.
2. Perkins, J.J., Principles and Methods of Sterilization in Health Sciences. 2nd Ed. Charles C. Thomas, Springfield, Illinois, 1969.

#### LECTURAS COMPLEMENTARIAS S2U5C11

1. Animal Welfare Act of 1966 (Public Law 89-544), and all subsequent amendments. (Copies available from USDA-APHIS, 2568A River Rd., Suite 206, Annapolis, MD 21410.)
2. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, HHS Pub. (CDC) 84-8395. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C., 1984.
3. Fox, J.G., Cohen, B.J., and Loew, F.M., eds. Laboratory Animal Medicine. Academic Press, Orlando, Florida, 1984.
4. Guide For The Care And Use Of Laboratory Animals, DHHS (NIH) Publication 85-23. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C., 1985.
5. Guide To The Care And Use Of Experimental Animals, Canadian Council on Animal Care (CCAC), Vols. 1 and 2, Ottawa, Ontario, Canada, 1980 and subsequent issues.

6. Harkness, J.E., *The Biology and Medicine of Rabbits and Rodents*, 2nd Ed. Lea and Febiger, Philadelphia, 1983.
7. IATA Live Animal Regulations, 11th Ed. International Air Transport Association, Montreal, Quebec, Canada, 1984.
8. Inglis, J.K., *Introduction to Animal Science and Technology*. Pergamon Press, Oxford, England, 1980.
9. Melby, E.C., and Balk, M.W. *The Importance of Laboratory Animal Genetics, Health, and the Environment in Biomedical Research*. Academic Press, Orlando, Florida, 1983.
10. Williams, C.S.F. *Practical Guide to Laboratory Animals*. C.V. Mosby Co., St. Louis, 1976.

#### LECTURAS COMPLEMENTARIAS S2U5C12

1. Foster, H.L. "Gnotobiology." In *The Laboratory Rabbit*. Weisbroth, S.H., Flatt, R. E., and Kraus, A. L., eds. Academic Press, Orlando, Florida, 1974.
2. Foster, H.L. "Gnotobiology." In *The Laboratory Rat*, Volume II. Baker, H.J., Lindsey, J.R., and Weisbroth, S. H., eds. Academic Press, Orlando Florida, 1980.
3. *Gnotobiology: Standards and Guidelines for the Breeding, Care, and Management of Laboratory Animals*. ILAR, National Academy of Sciences, Washington, D.C., 1970.
4. Krakowka, S. et al. "Revised Surgical Procedure for the Derivation of Gnotobiotic Dogs." *Am. J. Vet. Res.* 42(1):149-150, 1981.
5. Pleasant, J.R. "Gnotobiotics." In *CRC Handbook of Laboratory Animal Science*, Volume I Melby, E.C., Jr., and Altman, N.H., eds. CRC Press, Cleveland, Ohio, 1974.
6. Wagner, J.E., and Foster, H.L. "German-Free and Specific Pathogen Free." In *The Biology of the Guinea Pig*. Wagner, J.E., and Manning, P.J., eds. Academic Press, Orlando, Florida, 1976.
7. Wasler, G.L. "Gnotobiotic Pigs." In *Diseases of Swine*, 4th Ed. Dunne, H.W., and Leman, A.D., eds. Iowa State University Press, Ames, Iowa, 1978.

#### LECTURAS COMPLEMENTARIAS S2U5C13

1. Bhatt, P.N. et al. *Viral and Mycoplasmal Infections of Laboratory Rodents: Effects on Biomedical Research*. Academic Press, Orlando, Florida, 1984.
2. Carter, G.R. *Essentials of Veterinary Bacteriology and Mycology*, 3rd Ed. Lea and Febiger, Philadelphia, 1986.
3. Dunn, F. L. "The Parasites of Saimiri in the Context of Platyrrhine Parasitism." In: *The Squirrel Monkey*. Rosenblum, L.H.A., and Cooper, R.W., eds. Academic Press, Orlando, Florida, 1968.



4. Flynn, R.J. Parasites of Laboratory Animals. Iowa State University Press, Ames, Iowa, 1973.
5. Gaafar, S.M., Howar, W.E. Parasites, Pests, and Predators. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, The Netherlands, 1985.
6. Georgi, M.E. Parasitology for Veterinarians, 5th Ed. W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1990.
7. Hamm, T.E., Jr. Complications of Viral and Mycoplasmal Infections in Rodents to Toxicology Research and Testing. Hemisphere Publishing Corp., New York, 1986.
8. Inglis, W.G., and Cosgrove, G.E. "The Pinworm Parasites (Nematoda: Oxyuridae) of the Hapalidae (Mammalia: Primates)." Parasitol. 55:731-737, 1965.
9. Kreier, J.P., and Baker, J.R. Parasitic Protozoa. Allen and Unwin, Inc., Winchester, Massachusetts, 1987.
10. Mims, C.A. The Pathogenesis of Infections Disease, 2nd Ed. Academic Press, Orlando, Florida, 1982.
11. Ruch, T.C. Diseases of Laboratory Primates. W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1959.
12. Russel, P.H., and Edington, N. Veterinary Viruses. Burlington Press, Cambridge, England, 1985.
13. Soulsby, E.J.L. Helminths, Arthropods, and Protozoa of Domesticated Animals, 7th Ed. Lea and Febiger, Philadelphia, 1982.
14. Stuart-Harris, C.H., and Harris, D.M., eds. The Control of Antibiotic-Resistant Bacteria. Academic Press, Orlando, Florida, 1982.
15. T-W-Fiennes, R.N. Infectious Cancers of Animals and Man. Academic Press, Orlando, Florida, 1982.

#### LECTURAS COMPLEMENTARIAS S2U5C14

1. Myrvik, Q.N., and Weiser, R.S. Fundamentals of Immunology, 2nd Ed. Lea and Febiger, Philadelphia, 1984.
2. Outteridge, P.M. Veterinary Immunology. Academic Press, London, 1985.
3. Roitt, I.M. Essential Immunology, 5th Ed. Blackwell Scientific Publications, Osney Mead, England, 1984.
4. Roitt, I.M., Brostoff, J., and Male, D.K. Immunology. C.V. Mosby Co., St. Louis, Missouri, 1985.
5. Sell, S. Basic Immunology: Immune Mechanisms in Health and Disease. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, The Netherlands, 1987.
6. Tizard, I. Veterinary Immunology: An Introduction, 3rd Ed. W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1987.

## LECTURAS COMPLEMENTARIAS S2U5C15

1. Branson, D. Microbiology for the Small Laboratory. Charles C. Thomas, Springfield, Illinois, 1972.
2. The CALAS Training Manual Animal Resources Division of the Health Protection Branch, Health and Welfare of Canada. CALAS, Ottawa, Ontario, Canada, 1976.
3. Douglas, S.W., and Williamson, H.D. Veterinary Radiological Interpretation. Lea and Febiger, Philadelphia, 1975.
4. Duncan, J.R., and Prasse, K.W. Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology, 2nd Ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa, 1986.
5. Eastman, T.R. Radiographic Fundamentals and Technique Guide. C.V. Mosby Co., St. Louis, Missouri, 1979.
6. Eastman Kodak Company. The Fundamentals of Radiography, 11th Ed. Eastman Kodak Company, Rochester, New York, 1968.
7. Flynn R. Parasites of Laboratory Animals. Iowa State University Press, Ames, Iowa, 1973.
8. Holmes, D.D. Clinical Laboratory Animal Medicine: An Introduction. Iowa State University Press, Ames, Iowa, 1984.
9. Melby, E.C., and Altman, N.H., eds. Handbook of Laboratory Animal Science, Vols. 1-3 CRC Press, Cleveland, Ohio, 1974-1976.
10. Osbaldiston, G.W. Laboratory Procedures in Clinical Veterinary Bacteriology. University Park Press, Baltimore, Maryland, 1973.
11. Owens, J.M. Radiographic Interpretation for the Small Animal Clinician. Ralston Purina Company, St. Louis, Missouri, 1982.
12. Thompson, T.T. Cahoon's Formulating X-ray Techniques, 9th Ed. Duke University Press, Durham, North Carolina, 1979.

## LECTURAS COMPLEMENTARIAS S2U5C16

1. Physicians' Desk Reference-1990, 44th Ed. Medical Economics Co., Inc., Oradell, New Jersey, 1990.
2. Blodinger, J., ed. Formulation of Veterinary Dosage Forms. Marcel Dekker, Inc., New York, 1983.
3. Liebenberg, S.P., and Linn, J.M. "Seasonal and Sexual Influences on Rabbit Atropinesterase." Lab. Anim. 14:297-300, 1980.
4. Linn, J.M., and Liebenberg, S.P. "In vivo Detection of Rabbit Atropinesterase." Lab. Anim. Sci. 29:335-337, 1979.
5. McCurnin, D.M. Clinical Textbook for Veterinary Technicians. W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1985.
6. Pratt, P.W., ed. Medical Nursing for Animal Health Technicians. American Veterinary Publications, Inc., Santa Barbara, California, 1985.

7. Upson, D.W. Clinical Veterinary Pharmacology. VM Publishing Co., Bonner Springs, Kansas, 1981.
8. Veterinary Pharmaceuticals and Biologics 1989/1990, 6th Ed. Veterinary Medicine Publishing Co., Lanexa, Kansas, 1988.  
**LECTURAS COMPLEMENTARIAS S2U5C17**
1. Baker, H.J., Lindsey, J.R., and Weisbroth, S.H., eds. The Laboratory Rat, Volume I: Biology and Diseases. Academic Press, Orlando, Florida, 1979.
2. Bhatt, P.N. et. al. Viral and Mycoplasmal Infections of Laboratory Rodents: Effects on Biomedical Research. Academic Press, Orlando, Florida, 1984.
3. Carter, G.R. Essentials of Veterinary Bacteriology and Mycology, 3rd Ed. Lea and Febiger, Philadelphia, 1986.
4. Dunn, F.L. "The Parasites of Saimiri in the Context of Platyrrhine Parasitism." In: The Squirrel Monkey. Roseblum, L.H.A., and Cooper, R.W., eds. Academic Press, Orlando, Florida, 1968.
5. Flatt, R.E., ed. "Ectromelia (Mousepox) in the United States, Part II." Lab. Anim. Sci. 31(S), 1981.
6. Flynn, R.J. Parasites of Laboratory Animals. Iowa State University Press, Ames, Iowa, 1973.
7. Foster, H.L., Small, J.D., and Fox, J.G., eds. The Mouse in Biomedical Research. Volume II: Diseases. Academic Press, Orlando, Florida, 1982.
8. Fox, J.G., Cohen, B.J., and Loew, F.M., eds. Laboratory Animal Medicine. Academic Press, Orlando, Florida, 1984.
9. Fraser, C.M. et al., eds. The Merck Veterinary Manual, 6th Ed. Merck and Co., Inc., Rahway, New Jersey, 1986.
10. Gaafar, S.M., Howar, W.E., and Marsh, R.E. Parasites, Pests, and Predators. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, The Netherlands, 1985.
11. Georgi, J.F. Parasitology for Veterinarians, 2nd Ed. W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1975.
12. Hamm, T.E., Jr. Complications of Viral and Mycoplasmal Infections in Rodents to Toxicology Research and Testing. Hemisphere Publishing Corp., New York, 1986.
13. Harkness, J.E., and Wagner, J.E. The Biology and Medicine of Rabbits and Rodents, 2nd Ed. Lea and Febiger, Philadelphia, 1977.
14. Inglis, W.G., and Cosgrove, G.E. "The Pinworm Parasites (Nematoda: Oxyuridae) of the Hapalidae (Mammalia: Primates)." Parasitol. 55:731-737, 1965.
15. Kreier, J.P., and Baker, J.R. Parasitic Protozoa. Allen and Unwin, Inc., Winchester, Massachusetts, 1987.

## LECTURAS COMPLEMENTARIAS S2U5C15

1. Branson, D. Microbiology for the Small Laboratory. Charles C. Thomas, Springfield, Illinois, 1972.
2. The CALAS Training Manual Animal Resources Division of the Health Protection Branch, Health and Welfare of Canada. CALAS, Ottawa, Ontario, Canada, 1976.
3. Douglas, S.W., and Williamson, H.D. Veterinary Radiological Interpretation. Lea and Febiger, Philadelphia, 1975.
4. Duncan, J.R., and Prasse, K.W. Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology, 2nd Ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa, 1986.
5. Eastman, T.R. Radiographic Fundamentals and Technique Guide. C.V. Mosby Co., St. Louis, Missouri, 1979.
6. Eastman Kodak Company. The Fundamentals of Radiography, 11th Ed. Eastman Kodak Company, Rochester, New York, 1968.
7. Flynn R. Parasites of Laboratory Animals. Iowa State University Press, Ames, Iowa, 1973.
8. Holmes, D.D. Clinical Laboratory Animal Medicine: An Introduction. Iowa State University Press, Ames, Iowa, 1984.
9. Melby, E.C., and Altman, N.H., eds. Handbook of Laboratory Animal Science, Vols. 1-3 CRC Press, Cleveland, Ohio, 1974-1976.
10. Osbaldiston, G.W. Laboratory Procedures in Clinical Veterinary Bacteriology. University Park Press, Baltimore, Maryland, 1973.
11. Owens, J.M. Radiographic Interpretation for the Small Animal Clinician. Ralston Purina Company, St. Louis, Missouri, 1982.
12. Thompson, T.T. Cahoon's Formulating X-ray Techniques, 9th Ed. Duke University Press, Durham, North Carolina, 1979.

## LECTURAS COMPLEMENTARIAS S2U5C16

1. Physicians' Desk Reference-1990, 44th Ed. Medical Economics Co., Inc., Oradell, New Jersey, 1990.
2. Blodinger, J., ed. Formulation of Veterinary Dosage Forms. Marcel Dekker, Inc., New York, 1983.
3. Liebenberg, S.P., and Linn, J.M. "Seasonal and Sexual Influences on Rabbit Atropinesterase." Lab. Anim. 14:297-300, 1980.
4. Linn, J.M., and Liebenberg, S.P. "In vivo Detection of Rabbit Atropinesterase." Lab. Anim. Sci. 29:335-337, 1979.
5. McCurnin, D.M. Clinical Textbook for Veterinary Technicians. W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1985.
6. Pratt, P.W., ed. Medical Nursing for Animal Health Technicians. American Veterinary Publications, Inc., Santa Barbara, California, 1985.

7. Upson, D.W. Clinical Veterinary Pharmacology. VM Publishing Co., Bonner Springs, Kansas, 1981.

8. Veterinary Pharmaceuticals and Biologics 1989/1990, 6th Ed. Veterinary Medicine Publishing Co., Lanexa, Kansas, 1988.

**LECTURAS COMPLEMENTARIAS S2U5C17**

1. Baker, H.J., Lindsey, J.R., and Weisbroth, S.H., eds. The Laboratory Rat, Volume I: Biology and Diseases. Academic Press, Orlando, Florida, 1979.

2. Bhatt, P.N. et. al. Viral and Mycoplasmal Infections of Laboratory Rodents: Effects on Biomedical Research. Academic Press, Orlando, Florida, 1984.

3. Carter, G.R. Essentials of Veterinary Bacteriology and Mycology, 3rd Ed. Lea and Febiger, Philadelphia, 1986.

4. Dunn, F.L. "The Parasites of Saimiri in the Context of Platyrrhine Parasitism." In: The Squirrel Monkey. Roseblum, L.H.A., and Cooper, R.W., eds. Academic Press, Orlando, Florida, 1968.

5. Flatt, R.E., ed. "Ectromelia (Mousepox) in the United States, Part II." Lab. Anim. Sci. 31(5), 1981.

6. Flynn, R.J. Parasites of Laboratory Animals. Iowa State University Press, Ames, Iowa, 1973.

7. Foster, H.L., Small, J.D., and Fox, J.G., eds. The Mouse in Biomedical Research. Volume II: Diseases. Academic Press, Orlando, Florida, 1982.

8. Fox, J.G., Cohen, B.J., and Loew, F.M., eds. Laboratory Animal Medicine. Academic Press, Orlando, Florida, 1984.

9. Fraser, C.M. et al., eds. The Merck Veterinary Manual, 6th Ed. Merck and Co., Inc., Rahway, New Jersey, 1986.

10. Gaafar, S.M., Howar, W.E., and Marsh, R.E. Parasites, Pests, and Predators. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, The Netherlands, 1985.

11. Georgi, J.F. Parasitology for Veterinarians, 2nd Ed. W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1975.

12. Hamm, T.E., Jr. Complications of Viral and Mycoplasmal Infections in Rodents to Toxicology Research and Testing. Hemisphere Publishing Corp., New York, 1986.

13. Harkness, J.E., and Wagner, J.E. The Biology and Medicine of Rabbits and Rodents, 2nd Ed. Lea and Febiger, Philadelphia, 1977.

14. Inglis, W.G., and Cosgrove, G.E. "The Pinworm Parasites (Nematoda: Oxyuridae) of the Hapalidae (Mammalia: Primates)." Parasitol. 55:731-737, 1965.

15. Kreier, J.P., and Baker, J.R. Parasitic Protozoa. Allen and Unwin, Inc., Winchester, Massachusetts, 1987.

16. Mims, C.A. The Pathogenesis of Infectious Disease, 2nd Ed. Academic Press, Orlando, Florida, 1982.

17. Noble, E.R., and Noble, G.A. Parasitology: The Biology of Animal Parasites, 5th Ed. Lea and Febiger, Philadelphia, 1982.

18. Ruch, T.C. Diseases of Laboratory Primates. W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1959.

19. Russel, P.H., and Edington, N. Veterinary Viruses. The Burlington Press, Cambridge, England, 1985.

20. Soulsby, E.J.L. Helminths, Arthropods, and Protozoa of Domesticated Animals, 7th Ed. Lea and Febiger, Philadelphia, 1982.

21. Stuart-Harris, C.H., and Harris, D.M., eds. The Control of Antibiotic-Resistant Bacteria. Academic Press, Orlando, Florida, 1982.

22. T-W-Fiennes, R.N. Infectious Cancers of Animals and Man. Academic Press, Orlando, Florida, 1982.

23. Wagner, J.E., and Manning, P.J., eds. The Biology of the Guinea Pig. Academic Press, Orlando, Florida, 1976.

#### LECTURAS COMPLEMENTARIAS S2UGC18

1. Gay, W.I., and Heavner, J.E., eds. Methods of Animal Experimentation Vol VII, Research Surgery and Care of the Research Animal, Part A, Patient Care, Vascular Acces, and Telemetry. Academic Press, Orlando, Florida, 1986.

2. Gay, W.I., and Heavner, J.E., eds. Methods of Animal Experimentation, Vol VII, Research Surgery and Care of The Research Animal, Part B, Surgical Approaches to the Organ Systems. Academic Press, Orlando, Florida, 1986.

3. Green, C.J. Animal Anesthesia. Laboratory Animals, Ltd. London, 1979.

4. Hughes, H.C. "Anesthesia of Laboratory Animals" Lab. Animal. 10(5):40-56, 1981.

5. Kirk, R.W., and Bistner, S.I. Handbook of Veterinary Procedures and Emergency Treatment, 4th Ed. W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1985.

6. Knecht, C.D. et al. Fundamental Techniques in Veterinary Surgery, 3rd Ed. W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1987.

7. Lumb, W.V., and Jones, E.W. Veterinary Anesthesia, 2nd Ed. Lea and Febiger, Philadelphia, 1984.

8. Sawyer, D.C. et al. Anesthetic Principles and Techniques. Michigan State University Press, East Lansing, Michigan, 1981.

9. Sawyer, D.C. The Practice of Small Animal Anesthesia. W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1982.

10. Soma, L.R. Textbook of Veterinary Anesthesia. Williams and Wilkins, Baltimore, Maryland, 1971.

11. Warren, R.G. Small Animal Anesthesia. C.V. Mosby Co., St. Louis, Missouri, 1983.

LECTURAS COMPLEMENTARIAS S2U6C19

1. Animal Models for Biomedical Research Series. Institute of Laboratory Animal Resources, National Academy of Sciences, 2101 Constitution Ave., NW, Washington, D.C., 20418.
2. Animal Models of Human Disease Series. The Registry of Comparative Pathology, Armed Forces Institute of Pathology, Washington, D.C., 20305.
3. Baker, H.J., Lindsey, J.R., and Weisbroth, S.H. "The Laboratory Rat." In: Housing to Control Research Variables, Vol.I. Academic Press, Orlando, Florida, 1979.
4. Bishop, S.P. et al. "Systemic Hypertension." In: Spontaneous Animal Models of Human Disease, Vol.1(pp 51- 53). Andrews, E.J. et al., eds. American College of Laboratory Animal Series. Academic Press, Orlando, Florida, 1979.
5. Faith, R.E., and Woodard, J.D. "Waardenburg's Syndrome." Comp. Path. Bull. 5:2, 1973.
6. Harmison, L.T., ed. Research Animals in Medicine. NIH Publication No. 72-333, National Heart and Lung Institute, National Institutes of Health, 9000 Rockville Pike, Bethesda, Maryland, 20892, 1973.
7. Hegreberg, G., and Leathers, C., eds. Bibliography of Induced Animal Models of Human Disease, Department of Veterinary Microbiology and Pathology, College of Veterinary Medicine, Washington State University, Pullman, Washington 99164.
8. Hegreberg, G., and Leathers, C., eds. Bibliography of Naturally Occurring Animal Models of Human Disease. Department of Veterinary Microbiology and Pathology, College of Veterinary Medicine, Washington State University, Pullman, Washington 99164.
9. Lindsey, J.R., Conner, M.W., and Baker, H.J. "Physical, Chemical, and Microbial Factors Affecting Biologic Response." In: Laboratory Animal Housing (pp 37-43). Institute of Laboratory Animal Resources, National Academy of Sciences, Washington, D.C., 1978.
10. Models for Biomedical Research. Committee on Models for Biomedical Research, Board on Basic Biology, National Academy of Sciences, 2101 Constitution Ave., NW, Washington, D.C. 20418.
11. Rowan, A. Of Mice, Models & Men. (pp 261-273), State University of New York, Albany, New York, 1984.
12. Scher, S. "Setting Up an Animal Experiment." Veterinary Technician. 7(5):217-220, 1986.
13. Simmonds, R.C. "Biomedical Models." Lab. Anim. 18(2):6, 1989.

## LECTURAS COMPLEMENTARIAS S2U6C20

1. Dixon, W.J., and Massey, F.J., Jr. Introduction to Statistical Analysis, 3rd Ed. McGraw-Hill Inc., New York, New York, 1969.
2. Erb, H.N. "A Statistical Approach for Calculating the Minimum Number of Animals Needed in Research." ILAR News. 32(1):11- 16, 1990.
3. Freund, J.E. Statistics, A First Course. Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, New Jersey, 1970.
4. Reed, L.J., and Muench, H. "A Simple Method for Estimating Fifty Percent Endpoints." Am. J. Hyg. 27:493-97, 1938.