



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

MANUAL PARA EL CUIDADO Y MANEJO ÉTICO DE ANIMALES DE
LABORATORIO (RATÓN, RATA Y CONEJO) PARA INVESTIGACIÓN
Y DOCENCIA.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

PRESENTA

GEORGINA RODRÍGUEZ SOLÍS

Asesor:

MVZ Atonatiu Edmundo Gómez Martínez



Ciudad Universitaria, Cd. Mx.

2019



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

Dedico este trabajo a mi querida Universidad y a mi maravillosa Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, a todos mis profesores, amigos y sobre todo a los animales que fueron parte de mi crecimiento profesional y de este proyecto. A mis padres y familia, por todo el apoyo y la confianza.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer ampliamente a los doctores Atonatiu y Ruth por el apoyo incondicional, por sus maravillosos consejos, por compartir sus experiencias profesionales, por todos los momentos divertidos y sobre todo por su confianza para realizar este trabajo.

A mi madre Georgina por siempre brindarme su apoyo total y a mi padre Rafael por apoyarme para terminar mis estudios.

A mis compañeros de servicio social de la Facultad de Química de la UNAM, Paola, Diana, Melissa, Fernanda y Marco, gracias por todos los momentos divertidos que compartimos juntos y por ser maravillosas personas. A los trabajadores del bioterio por siempre brindarme su apoyo y tener su confianza en mí.

Agradecer a mis animales de compañía, mi gatita Pelusa que fue mi compañera desde que inicie mi carrera Universitaria y a mi gatita Kelly que es tan tierna y parlanchina. A mis conejos Blacky, Mimí y Panque por participar en los proyectos y prácticas de mi servicio social y posar en las fotos de tesis. Y a todos mis animales de compañía que a través de mi vida me inspiraron a lograr cumplir mi sueño que es ser un Médico Veterinario y Zootecnista.

CONTENIDO

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
OBJETIVOS.	3
REVISIÓN SISTEMÁTICA.....	3
ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN.	4
I.- DEFINICIÓN DE BIOTERIO.	4
II.- ALTERNATIVAS O MEJORAS PARA EL CUIDADO ÉTICO DE ANIMALES DE LABORATORIO.....	5
2.1 Etología.	5
2.1.1 Etología en ratones.	6
2.1.2 Etología en ratas.	10
2.1.3 Etología en conejos.	13
2.2 Bioética:.....	16
2.3 Las tres erres de Russell y Burch:	18
2.4 Enriquecimiento ambiental.....	20
2.4.1 Tipos de enriquecimiento ambiental.	22
2.4.2 Enriquecimiento ambiental en ratones.....	23
2.4.3 Enriquecimiento ambiental en ratas.....	24
2.4.4 Enriquecimiento ambiental en conejos.	25

2.5 Bienestar animal.....	27
III.- NORMATIVIDAD NACIONAL ACERCA DEL USO Y CUIDADO EN RATONES, RATAS Y CONEJOS.....	29
IV.- COMITÉS ENCARGADOS DEL CORRECTO USO DE ANIMALES DE LABORATORIO.....	31
V.- REQUISITOS MÍNIMOS PARA EL CUIDADO DE ANIMALES DE LABORATORIO.....	33
VI. MODELOS ANIMALES Y CARACTERÍSTICAS DE LAS ESPECIES.....	35
6.1 Ratón (<i>Mus musculus</i>).....	37
6.1.1 Anatomía:.....	38
6.1.2 Manejo:.....	41
6.2. Rata (<i>Rattus norvegicus</i>).....	44
6.2.1 Anatomía:.....	45
6.2.2 Manejo:.....	49
6.3 Conejo (<i>Oryctolagus cuniculus</i>).....	53
6.3.1 Anatomía:.....	54
6.3.2 Manejo:.....	59
VII. VÍAS CORRECTAS DE ADMINISTRACIÓN DE SUSTANCIAS.....	61
7.1 Volúmenes para la administración de sustancias.....	64
7.2 Vía subcutánea.....	65

7.2.1 Ratón.....	65
7.2.2 Rata.....	67
7.2.3 Conejos.	69
7.3 Vía intramuscular.....	74
7.3.1 Ratón y rata.....	74
7.3.2 Conejos.	78
7.4 Vía intravenosa.....	82
7.4.1 Vena caudal en ratón y rata.....	83
7.4.2 Vena marginal en conejo.....	85
7.5 Vía intraperitoneal.....	88
7.5.1 Ratón y rata.....	88
7.5.2 Conejos.	92
7.6 Vía oral.	95
7.6.1 Ratón y rata.....	95
VIII. PROTOCOLOS ANESTÉSICOS.....	99
IX. ANALGÉSICOS.....	106
X. VÍAS DE TOMA DE MUESTRAS SANGUÍNEAS.....	109
10.1. Técnicas aceptadas.....	113
10.1.1 Extracción de sangre de vena mandibular en ratón y rata.....	113
10.1.2 Extracción de muestra sanguínea de vena caudal en ratón y rata.....	117

10.1.3 Extracción de muestra sanguínea por punción de vena caudal distal en ratón y rata.	120
10.1.4 Extracción de muestra sanguínea de vena marginal en conejos.	123
10.2. Técnicas condicionadas.....	126
10.2.1 Extracción de sangre del seno venoso orbital en ratón y rata.	126
10.2.2 Punción cardiaca.	133
XI. PARÁMETROS PARA DETERMINAR EL PUNTO FINAL DE UN EXPERIMENTO.....	138
XII. EUTANASIA Y MÉTODOS DE MUERTE ACEPTABLES.	140
XIII. MANEJO DE RESIDUOS BIOLÓGICOS INFECCIOSOS.....	149
ANEXOS.....	153
BASES DE DATOS SOBRE MÉTODOS ALTERNATIVOS A LA EXPERIMENTACIÓN ANIMAL.....	153
REVISTAS ACADÉMICAS SOBRE MÉTODOS ALTERNATIVOS.	154
LISTA DE ORGANIZACIONES QUE PROMUEVEN EL USO ÉTICO DE ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.	154
SITIOS DE VENTA DE ALIMENTO Y ANIMALES DE LABORATORIO EN MÉXICO.	156
SITIOS DE VENTA DE EQUIPO PARA BIOTERIOS EN MÉXICO.....	156
SITIOS WEB SOBRE INVESTIGACIÓN ANIMAL.	157
REFERENCIAS.	158

FIGURAS.....	167
CUADROS.....	171

RESUMEN

RODRÍGUEZ SOLÍS GEORGINA. Manual para el cuidado y manejo ético de animales de laboratorio (Ratón, rata y conejo) para investigación y docencia (bajo la dirección del: MVZ Atonatiu Edmundo Gómez Martínez).

El presente manual tiene como objetivo primordial el promover el cuidado responsable y ético de los animales utilizados en la enseñanza. Los objetivos de este documento buscan brindar información que mejore el bienestar de los animales, la calidad de la docencia, prácticas y el avance de conocimientos en ciencias biológicas relevante para los humanos y los animales.

Este manual recopila algunos conceptos fundamentales en lo ético, profesional y lo técnico; contiene temas relacionados con normatividad, bioética, características de animales, enriquecimiento ambiental, bienestar animal, manejo de animales, vías de administración, toma de muestras, analgésicos, dosis de anestésicos, punto final humanitario, eutanasia y manejo de residuos peligrosos biológicos infecciosos.

INTRODUCCIÓN.

En la investigación biomédica actual, se utilizan animales de laboratorio que están bajo condiciones ambientales, nutricionales y genéticas; evitando variables en los proyectos; es importante recalcar que existen alternativas en la investigación básica como son estudios *in vitro* e *in silico* (modelos virtuales).

El uso del animal como fuente de conocimientos experimentales tiene ya una larga trayectoria en áreas como la farmacología, fisiología, toxicología, psicología, cirugía, etología, etc. En la educación profesional es importante que el alumno adquiera destrezas y conocimiento anatómico fisiológico de los animales de laboratorio que comúnmente se utilizan en las prácticas de laboratorio que así lo requieren.

OBJETIVOS.

Elaborar un manual para que los alumnos, laboratoristas y docentes, que utilicen ratones, ratas y conejos de laboratorio en la Facultad de Química de la UNAM, apliquen la ética en el cuidado y manejo de los animales como sujetos de experimentación. Es importante recalcar que se debe siempre apegar a las normas de uso y cuidado del animal de laboratorio, conocer que son seres capaces de sentir dolor, experimentar una serie de emociones y sentimientos.

Se creará un acervo bibliográfico e informativo actualizado de los procedimientos más frecuentes que se realizan en la Facultad con tendencias a la actualización continua y periódica.

REVISIÓN SISTEMÁTICA.

Para la elaboración de este manual se realizaron consultas bibliográficas utilizando manuales, libros, tesis, artículos y páginas web científicas relacionadas con animales de laboratorio.

Este manual contiene XIII capítulos que abarcan lo referente a las características de los bioterios, normas, programas y comités relacionados al cuidado y uso de los animales de laboratorio; alternativas para el cuidado ético de los animales de laboratorio, características fisiológicas, manejo, protocolos de fármacos a utilizar, parámetros para determinar el punto final de un experimento, eutanasia y toma de muestras.

ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN.

El manual aportara información básica con respecto al cuidado y manejo ético de los animales de laboratorio (Ratón, rata y conejo), incluyendo referencias y bibliografía para que el estudiante si así lo desea amplié la información. Además, aportará información acerca de tomas de muestras, vías de administración, protocolos de fármacos y métodos aceptables para la eutanasia.

A continuación, se describe que es un bioterio.

I.- DEFINICIÓN DE BIOTERIO.

Definición de Bioterio: bíos, “vida” y therio "lugar.

Un Bioterio es el conjunto de instalaciones destinados al alojamiento y manutención de animales de laboratorio durante una o varias de las fases de su ciclo vital; como son, nacimiento, desarrollo, reproducción y muerte. **NOM-062 ZOO-1999.** ⁽¹⁾

En los bioterios se alojan animales que cuentan con una calidad genética y microbiológica definida donde se realiza experimentación. Se controla la calidad y cantidad de luz, las renovaciones de aire por hora, la temperatura y la humedad entre otros factores, acordes a las necesidades de la especie que allí se aloje. ⁽²⁾

Funciones de un bioterio: investigación, producción, mantenimiento de animales, pruebas de constatación y docencia.

Otros nombres que se les da a las instalaciones para la investigación con organismos vivos en condiciones de confinamiento controlado es Unidad de Experimentación Animal, Animalario, Unidad de Modelos Biológicos, Laboratorios de Experimentación Animal. ⁽²⁾

II.- ALTERNATIVAS O MEJORAS PARA EL CUIDADO ÉTICO DE ANIMALES DE LABORATORIO.

2.1 Etología.

La etología del griego Ethos costumbre y logos estudio. Es una subdisciplina de la psicobiología que aborda el estudio de la conducta espontánea de los animales en su medio natural. La etología considera que la conducta es un conjunto de rasgos fenotípicos y está influenciada por factores genéticos. En resumen, la etología pretende describir la conducta natural, explicar cómo se produce, que función adaptativa cumple, su filogenia o evolución.

La etología es una disciplina relativamente nueva dentro de la ciencia animal; Konrad Lorenz, generalmente considerado como el fundador de la etología, descubrió el “imprinting” (impresión) como concepto básico, de un animal aprendiendo quien es su madre y a que especie pertenece.

Los animales como las personas son sociables. Ellos interactúan, se comunican, desarrollan relaciones amistosas o apegos, unos son dominantes y otros son subordinados o sometidos, tienen alguna necesidad de privacidad o “territorio”, y son afectados por las “interrelaciones sociales”.⁽³⁾

Hoy en día, los científicos reconocen las contribuciones tanto de los enfoques conductistas como de los etológicos para entender el comportamiento. Los cerebros de las aves y de los mamíferos están contruidos con el mismo diseño básico: todos tienen tronco, sistema límbico, cerebelo y corteza cerebral; esta última es la porción del cerebro que se utiliza para el pensamiento y la solución flexible de problemas. La mayor diferencia entre el cerebro humano y los de animales es el tamaño y la

complejidad de la corteza; los primates tienen una corteza más grande y compleja que los perros o cerdos y estos a su vez mayor que la de las ratas. Todos los animales poseen patrones motores innatos y propios de cada especie, que interactúan con la experiencia y el aprendizaje para formar la conducta. Según el grado de desarrollo de la especie animal y su evolución cerebral, será el tipo de patrones de conducta que dominen su comportamiento. Un principio etológico básico establece que los animales con cerebros grandes y complejos, los patrones dominantes son los derivados de la experiencia y el aprendizaje. ⁽⁴⁾

2.1.1 Etología en ratones.

La gran adaptabilidad del ratón a todo tipo de ambientes y situaciones ha atraído la atención de los etólogos, quienes consideran a esta especie como la más adaptable de todos los mamíferos, con excepción del hombre, en particular en términos reproductivos.

Los ratones son animales de actividad nocturna y por lo tanto su vista está muy poco desarrollada; son prácticamente incapaces de percibir color y sensibles a altas intensidades de luz. Los animales albinos, sufren degradación de retina cuando se exponen a una intensidad de luz superior a 60 Lux.

Los sentidos más importantes para los ratones son el olfato y el tacto. En la orina del macho, y en menor grado de la hembra, existen compuestos odoríferos que sirven para marcar el territorio y regular la actividad sexual y social del grupo. Los ratones usan sus bigotes para percibir objetos y el movimiento del aire.

El oído de los ratones también está muy desarrollado, especialmente para frecuencias altas (ultrasonidos) que los humanos no podemos percibir. Por ejemplo,

los roedores pueden oír sonidos de frecuencia tan altas como 70-80 kilohertz, aunque son insensibles a frecuencias de menos de 500 hertz. ⁽⁵⁾

Los ratones son animales tímidos pero sociales. El contacto con otros de su especie es importante, porque un ratón alojado solo puede estresarse y ser más agresivo. Aunque los ratones silvestres son nocturnos, los ratones de laboratorio tienen periodos activos tanto de día como de noche.

Las categorías de comportamientos comunes de los ratones incluyen:

- (1) comportamientos de mantenimiento (acicalarse, comer, beber, anidar);
- (2) conductas investigativas / exploratorias (escalar, cavar, masticar, olfatear);
- (3) interacciones sociales (acurrucarse juntos, acicalarse entre sí, olor / marcación territorial, agresión, defensa, comportamiento sexual).

Los ratones pasan una gran cantidad de tiempo manipulando su material de cama, y si el material lo permite, construirán túneles y nidos. Proporcionar materiales de anidación apropiados a los ratones es importante, ya que el comportamiento de anidación es muy pronunciado en hembras gestantes. ⁽⁶⁾

Es importante mencionar que los animales pueden presentar dolor así que se tiene que tener en cuenta los signos de dolor en los animales, en el Cuadro 1 se indican las características conductuales y fisiológicas de los ratones cuando tienen dolor.

Cuadro 1.

SIGNOS DE DOLOR O MALESTAR EN RATONES.

Comportamiento General	Apariencia	Fisiológicos
<ul style="list-style-type: none">• Reduce actividad.• Reduce apetito.• Reduce ingesta de agua.• Guarda las extremidades.• Automutilación.• Incrementa la agresividad y las vocalizaciones.• Aversión a la manipulación.• Se aísla del grupo.• Incrementa el movimiento de las vibrisas.	<ul style="list-style-type: none">• Falta de acicalamiento.• Pilo erección.• Abdomen hundido.• Postura encorvada.• Secreción porfirínica nivel nasal.• Párpados parcialmente cerrados.• Pupilas dilatadas.• Animal en decúbito lateral.	<ul style="list-style-type: none">• Sueño interrumpido.• Hipotermia.• Respiración superficial y rápida.• Puede emitir algún sonido durante la expiración.

Tabla editada de la Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica (CONICYT). ⁽⁷⁾

A continuación, en la Figura 1, se muestra una evaluación del dolor en ratones, donde se perciben los gestos faciales.

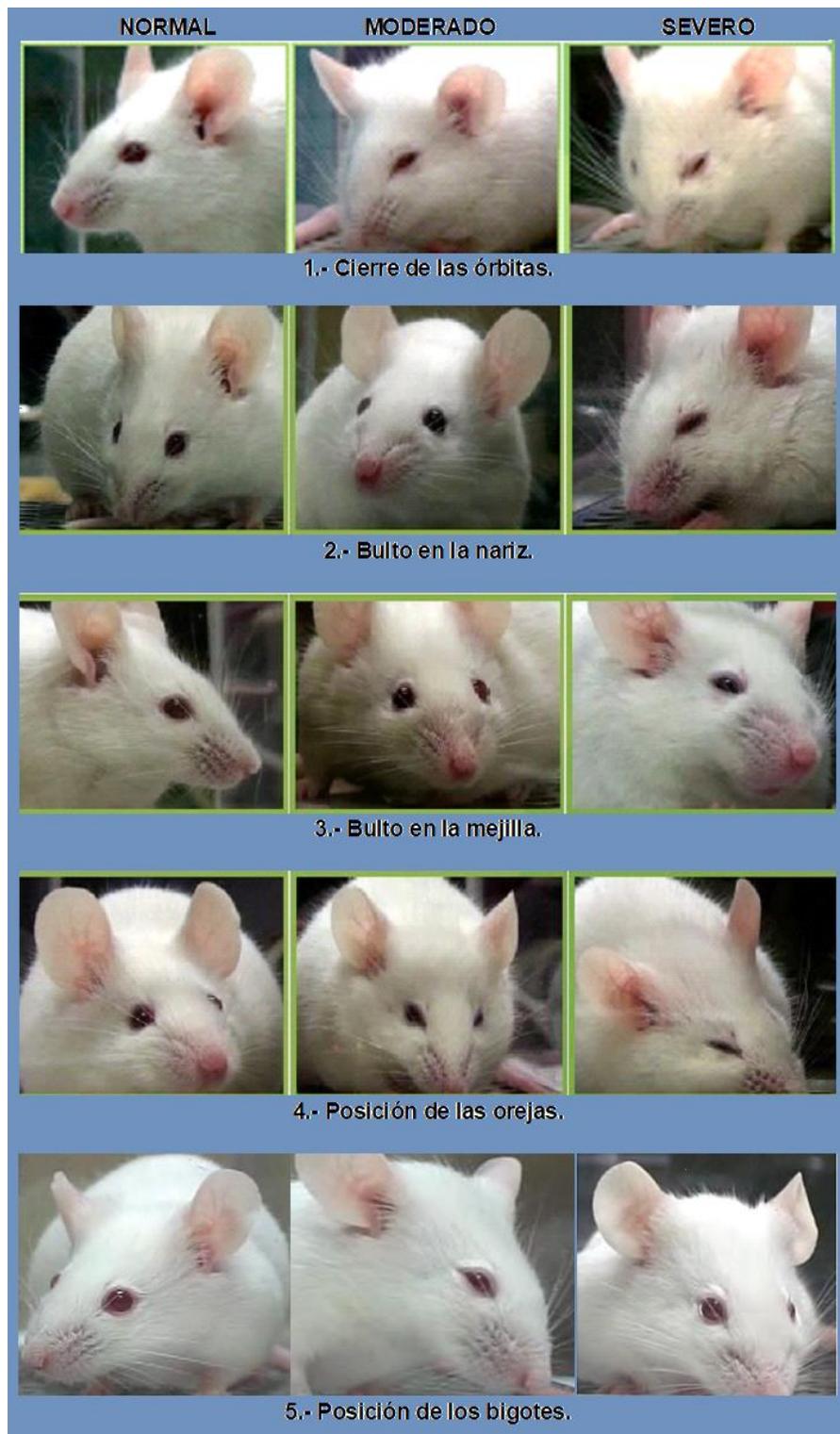


Figura 1. Evaluación del dolor en ratón.

Modificada de Nature Methods ⁽⁸⁾

2.1.2 Etología en ratas.

A pesar del temor que las ratas inducen en las personas, son animales tranquilos, inteligentes y fáciles de manejar. Raramente muerden a menos que se les moleste o que se manejen inadecuadamente. ⁽⁹⁾

Las ratas pueden alojarse individualmente o en grupos. En general, las ratas machos son menos propensos a pelearse cuando están alojados juntos ⁽¹⁰⁾; pero las hembras con camadas pueden no tolerar la compañía de otras hembras. La mayoría de las cepas son dóciles, curiosas y se adaptan fácilmente a diversos entornos. El comportamiento dócil puede ser notable cuando el manejo de las ratas es frecuente y suave.

Las ratas son nocturnas, durmiendo la mayor parte del día. Les gusta excavar y aunque hay cierta variabilidad entre las cepas, las hembras pueden construir nidos si las crías están presentes y se les provee de material de anidamiento. Las crías emiten vocalizaciones de alta frecuencia (22-80 kHz). Los adultos vocalizan rutinariamente bajo una variedad de circunstancias; casi todos estos sonidos están más allá del alcance del oído humano. ⁽⁹⁾

En el Cuadro 2 se muestran los signos de dolor o malestar que se pueden observar en las ratas.

Cuadro 2.

SIGNOS DE DOLOR O MALESTAR EN RATAS.

Comportamiento General	Apariencia	Fisiológicos
<ul style="list-style-type: none">• Reduce actividad.• Reduce apetito.• Reduce ingesta de agua.• Guarda las extremidades.• Automutilación.• Aumenta la agresividad.• Incrementan las vocalizaciones.• Aversión a la manipulación.• Se aísla del grupo.	<ul style="list-style-type: none">• Falta de acicalamiento.• Pilo erección.• Abdomen hundido.• Postura encorvada.• Secreción porfirínica a nivel nasal.• Párpados parcialmente cerrados.• Pupilas dilatadas.• Animal en decúbito lateral.	<ul style="list-style-type: none">• Sueño interrumpido.• Hipotermia.• Respiración superficial y rápida, puede emitir algún sonido durante la expiración.

Tabla editada de la Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica (CONICYT). ⁽⁷⁾

El dolor agudo hace que la glándula de Harder, una glándula lagrimal modificada, produzca una secreción roja que normalmente lubrica el ojo. Cuando la rata está estresada, esta secreción se desborda en la cara, produciendo un anillo rojo alrededor del ojo, que es característico del estrés; esto se conoce como cromodacriorrea. La tinción roja también puede aparecer en la nariz, ya que la secreción fluye hacia abajo del conducto nasolagrimal. ⁽¹⁰⁾

En la Figura 2, se muestra una evaluación del dolor, donde se ilustra los gestos indicativos de dolor en la rata.

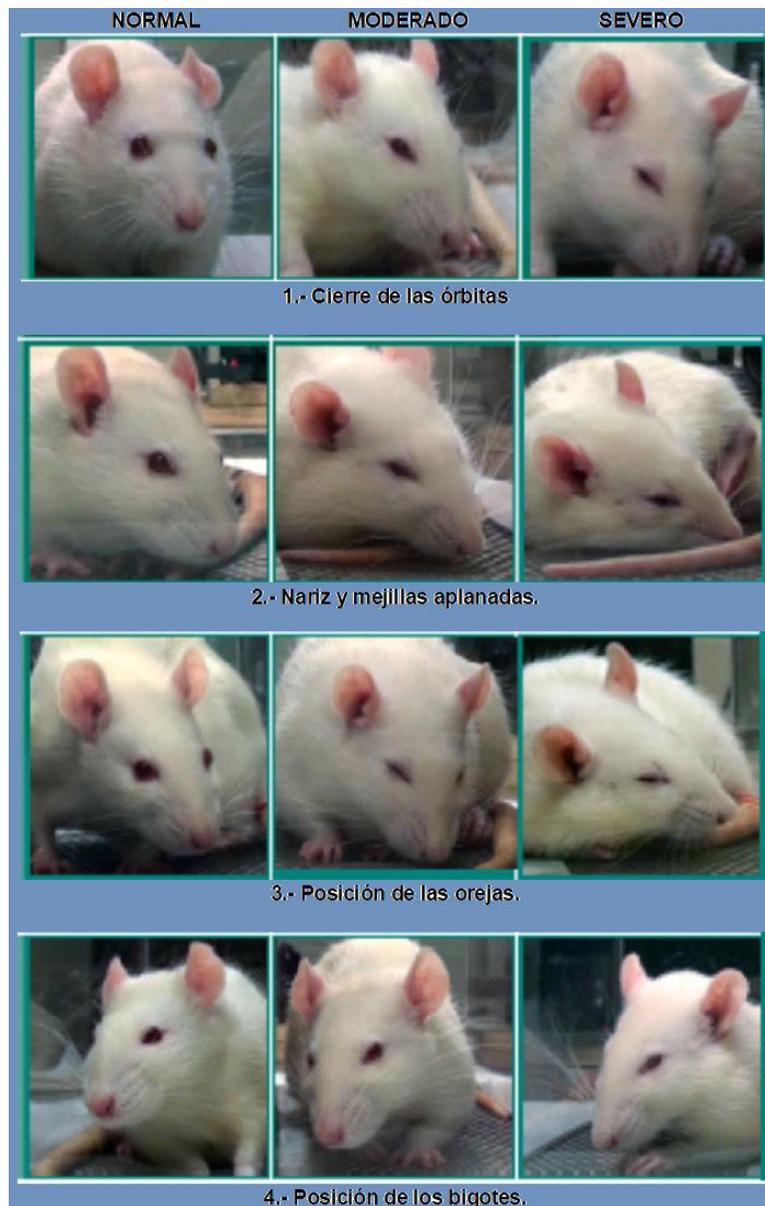


Figura 2. Evaluación del dolor en la rata.

Modificada de Nature Methods ⁽⁸⁾

2.1.3 Etología en conejos.

Se ha descubierto que los conejos silvestres y domésticos son muy similares en su comportamiento. Es esencial tener esto en cuenta al cuidar y manipular conejos. ⁽¹¹⁾

En general los conejos son tímidos, pero no son agresivos. Algunos animales mostrarán una conducta defensiva, típicamente caracterizada, que es golpeando el piso de la jaula con las patas traseras, mordiendo y aventándose hacia el frente de la jaula cuando se abre. ⁽¹²⁾

Los conejos a menudo pasan la tarde y primeras horas de la mañana buscando comida ⁽¹³⁾; pero los conejos alojados en laboratorio demuestran un comportamiento diurno. ⁽¹²⁾ Es importante tener en cuenta la biología de los conejos al diseñar protocolos de alojamiento y cuidados, ya que los conejos domésticos conservan muchas conductas de tipo salvaje. ⁽¹¹⁾

Los comportamientos más comunes de los conejos alojados individualmente son: estar alerta, dormir, acostarse, comer y están inactivos la mayoría del tiempo; a comparación con los conejos alojados en pares tienen mayor actividad. ⁽¹²⁾ Los conejos sexualmente maduros son territoriales y generalmente pelearán si están juntos. Por el contrario, si las hembras inmaduras son alojadas juntas a los 3 meses de edad o menos, a menudo establecen grupos estables a largo plazo. ⁽⁹⁾

Aunque no son particularmente vocales, se comunican entre sí a través de señales de olor, tocándose y golpeando sus patas traseras en el suelo para advertir de peligro. ⁽¹³⁾ Tienden a ser curiosos, pero se asustan fácilmente.

Cuando el conejo está asustado o adolorido, pueden emitir un grito agudo o una exhibición en forma de pisar fuerte, gruñir, o bufar. Al igual que con otras especies

presa, los conejos se quedan quietos cuando están asustados o estresados y rara vez puede mostrar signos evidentes de dolor. ⁽⁹⁾

En el Cuadro 3, se muestran los signos de dolor en conejos.

Cuadro 3.

SIGNOS DE DOLOR O MALESTAR EN CONEJOS.

Comportamiento General	Apariencia	Fisiológicos
<ul style="list-style-type: none"> • Se esconde o evade el contacto. • Chillidos o gritos. • Agresividad. • Rasguña. • Muerde. • Apetito disminuido. • Inmovilidad tónica. 	<ul style="list-style-type: none"> • Puede no mostrar grandes cambios, pero hay caída de pelo. 	<ul style="list-style-type: none"> • Salivación. • Respiración superficial y rápida.

Tabla editada de la Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica (CONICYT). ⁽⁷⁾

En la Figura 3, se muestra una evaluación del dolor en el conejo, donde se perciben los gestos faciales.

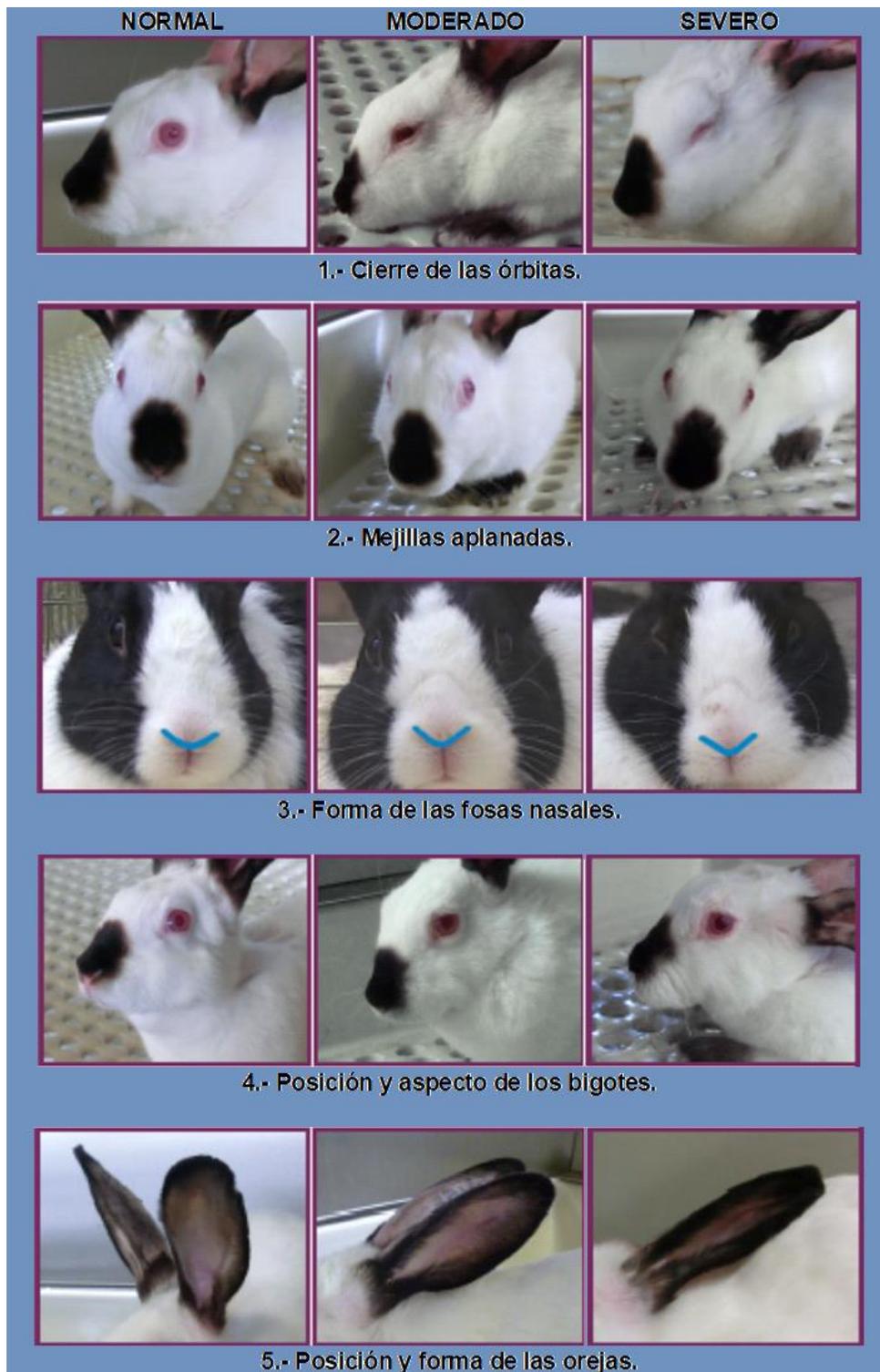


Figura 3. Evaluación del dolor en conejo.

Modificada de Nature Methods ⁽⁸⁾

2.2 Bioética:

La ética es una rama de la filosofía que se dedica a la reflexión crítica y racional de los principios que guían nuestras decisiones y comportamientos, buscando los fundamentos de los juicios morales. Aspira a ser racional y objetiva, a la vez que ha de proporcionar conocimientos sistemáticos, metódicos, y hasta donde sea posible verificables. ⁽¹⁴⁾

La ética de los deberes dice que: “Los animales no sólo tienen valor instrumental sino un valor en sí mismos”, es decir no son simple “material biológico”, sino seres vivientes y sintientes, por lo que nos debemos referir a ellos, como: “sujetos experimentales o sujetos de estudio”. ⁽¹⁵⁾

El término “bioética” se compone de los vocablos “bíos” y “ethiké”. El primero se refiere a la vida, y el segundo deriva de êthos, que significa costumbres, carácter y refugio, ⁽¹⁶⁾ es decir, como el estudio sistemático de la conducta humana en el área de las ciencias de la vida y la salud, a la luz de los principios de la ética incluyendo la consideración del entorno ecológico, demográfico y ambiental. ⁽¹⁷⁾ Tiene un papel insustituible porque su tarea consiste en preservar y promover la vida de las generaciones presentes, futuras y de la naturaleza con sentido de la justicia, en cuidar de los seres vulnerables y en asumir la responsabilidad por las consecuencias que las decisiones económicas, avances científicos y técnicos tienen para ellos, e incluso los impactos no deseados ⁽¹⁶⁾ ; trata los conflictos morales planteados por las ciencias de la vida, es un puente entre la biología y la moral, la ciencia y el humanismo, en busca de resolver la necesidad de rescatar los valores, principios morales y preservar el entorno para enfrentar las amenazas que se

ciernen sobre la supervivencia del hombre y la naturaleza, estudiando los dilemas humanos frente a las ciencias de la vida y los temas de estudio que se orientan inicialmente hacia los problemas individuales de la cotidianidad humana. ⁽¹⁸⁾ En el abordaje de la relación entre humanos y animales, constituye un pilar importante en la formación integral de los profesionales en salud animal, por lo que resulta imprescindible propagar la idea de que independientemente del fin que se persiga con la crianza animal, ya sea de compañía (afectivo), experimental o productivo, los animales también son seres vivos y tienen derecho a ser tratados con respeto, por lo que es necesario establecer condiciones adecuadas de bienestar durante su uso, manejo y muerte. ⁽¹⁹⁾

La bioética emplea corrientes del pensamiento como el Utilitarismo, la Deontología (deber) y el Principialismo, la obligación de no causar daño, la práctica de la equidad y la justicia retributiva. ⁽¹⁹⁾

Paul W. Taylor fue un filósofo conocido por su trabajo en el campo de la ética ambiental, él propone un conjunto de principios de prioridad, cada principio representa un grupo de consideraciones moralmente relevantes que pueden servir como guías básicas para tomar decisiones sobre qué deberes pesan más que otros.

Hay cinco principios los cuales son:

1.-Principio de autodefensa: establece que es permisible que uno se proteja contra organismos peligrosos o dañinos que amenazan la vida y la salud básica de una persona, mediante la destrucción de ellos. La justificación de la autodefensa depende de tratar de evitar situaciones de conflicto y utilizar el método menos dañino para defendernos. Implica un daño vital a otro.

2.- Principio de proporcionalidad: establece que se debe dar mayor importancia a los intereses básicos que a los no básicos, sin importar de que especie se trate.

3.- Principio de mínimo daño: debemos lograr nuestros objetivos de la manera que menos daño produzca mediante la búsqueda de nuestros intereses de una manera que minimice el grado de daño o dolor causados a otros organismos.

4.- Principio de justicia distributiva: cubre conflictos entre intereses básicos de todos los involucrados o afectados.

5.- Principio de justicia retributiva: cuando se ha dañado a los organismos, se requiere compensarlos por el daño causado. ^(20,21)

Por ende, el animal de laboratorio tiene que ser respetado como ser vivo, entender que tiene necesidades y sufre dolor; por ética y en consciencia es obligación del personal que lo mantiene y utiliza, asegurar su bienestar y disminuir su sufrimiento mientras viva.

2.3 Las tres erres de Russell y Burch:

En 1957, en Inglaterra, durante el Simposio sobre Técnicas Humanitarias en el Laboratorio convocado por la Federación de Universidades para el Bienestar Animal se acuñó el concepto de las tres erres (3 “R”s): *reemplazo, reducción y refinamiento*.

Posteriormente en 1959, los autores del concepto; William Russel y Rex L. Burch publicaron el libro “Los Principios de la Técnica Experimental Humanitaria” (reimpreso en 1992) en donde se definió con precisión cada uno de los principios.

Las tres erres (3R’s) se refieren a reemplazar los animales de experimentación por métodos o modelos que no impliquen su uso, reducir su número siempre que sea

posible y cuando sea necesario utilizarlos, por último, se refiere a refinar las técnicas para aminorar su sufrimiento.

Los principios de las tres erres prevalecen en nuestros días como referente ético en la experimentación con animales de laboratorio.

Hoy en día, las 3R's son vistas como un marco para la realización de estudios científicos de alta calidad en los sectores académicos e industriales con mayor énfasis en el desarrollo de enfoques alternativos que eviten el uso de animales.

La necesidad de mejorar el diseño y los procedimientos de la investigación con animales está tomando impulso en la comunidad científica sobre todo el minimizar el uso de los animales y mejorar su bienestar. ⁽²²⁾

1. **Reemplazo:** eventualmente, este es el objetivo deseado para los métodos científicos en los cuales los experimentos con animales son reemplazados efectivamente por métodos libres de animales. Por ejemplo, modelos informáticos, modelos *in silico*. ⁽²³⁾

El reemplazo puede dividirse en dos categorías principales, reemplazo absoluto y relativo.

Ventajas del reemplazo:

- reduce los tiempos,
- disminuye costos.

2. **Reducción:** se refiere a disminuir el número de animales utilizados (al mínimo con el que se pueda obtener una significancia estadística ($n=$) en los resultados), así como reducir las situaciones que les causen estrés y dolor,

antes, durante y después del procedimiento. ⁽²⁰⁾ Las ventajas al reducir el número de animales permite optimizar la misma cantidad de información.

3. **Refinamiento:** consiste en depurar los protocolos en todos los estudios que se realicen en animales, desde el alojamiento y crianza, hasta los procedimientos científicos realizados en ellos. Por ejemplo, el uso adecuado de anestésicos y analgésicos para minimizar el dolor; capacitación del personal, entrenar y socializar a los animales para que el manejo sea más sencillo durante los procedimientos de toma de muestras y así disminuir el estrés o cualquier otra forma de daño al bienestar del animal. ^(22,23)

Antes de implementar un experimento, el investigador principal del estudio junto con el veterinario debe revisar los objetivos del ensayo y determinar si su intervención altera el objeto principal del estudio. En un contexto ideal, el diseño experimental debe contar con un protocolo de refinamiento el cual garantice disminuir cualquier estado de sufrimiento en los animales. ⁽²⁴⁾ Es importante conocer métodos para detectar dolor, saber determinar el punto final y aplicar eutanasia. ⁽²⁵⁾

Para mayor información sobre métodos alternativos a la experimentación animal, revisar la base de datos en el anexo.

2.4 Enriquecimiento ambiental.

El enriquecimiento tiene como objetivo mejorar el bienestar psicológico y físico de los animales en cautiverio proporcionándoles estímulos ambientales que ayudan a satisfacer sus necesidades conductuales y psicológicas.

En vida silvestre, los animales están expuestos a una gran variedad de estímulos sensoriales los cuales cambian constantemente. En cautiverio, tales estímulos son limitados o inexistentes. A través del enriquecimiento ambiental, podemos proveerles alternativas que les permiten expresar algunos de sus comportamientos naturales necesarios.

El enriquecimiento ambiental es una técnica para mejorar el entorno y como consecuencia la vida del animal cautivo, permitiéndole tener un mayor control sobre su ambiente y experimentar situaciones novedosas, maximizando beneficios y minimizando riesgos, aproximándose estrechamente a los comportamientos propios de su especie en vida libre. El enriquecimiento tiene que ver con el diseño de los recintos, juguetes, accesorios, presentación y tipos de comida, formación de grupos sociales y cualquier otro factor que pueda influenciar la percepción del animal cautivo respecto a su ambiente ⁽²⁶⁾ y de esta forma atenuar los efectos negativos del cautiverio, el aislamiento o las intervenciones invasivas.

Enriquecer la vida de los animales en cautiverio es importante tanto para su bienestar físico como mental. Se ha visto que este enriquecimiento:

- 1) Eleva la calidad de vida del animal residente.
- 2) Ayuda en disminuir el estrés, la agresividad, el aburrimiento y los comportamientos estereotípicos.
- 3) Sirve para promover ciertos comportamientos específicos naturales de la especie.
- 4) Le permite al animal enfrentar desafíos de mejor manera.
- 5) Facilita el trabajo de los cuidadores.
- 6) Puede incrementar el éxito de reproducción.

- 7) Si se ejecuta correctamente, también sirve como herramienta de educación sobre la conservación y el bienestar animal.
- 8) Ayuda a preparar, mental y físicamente a los animales que serán utilizados en la experimentación. ⁽²⁶⁾

2.4.1 Tipos de enriquecimiento ambiental.

El enriquecimiento ambiental debe comprender un buen diseño y un programa evaluado que beneficie a los animales y a los resultados experimentales. Los tipos de enriquecimiento ambiental generalmente se clasifican en enriquecimiento social y físico. ⁽²⁷⁾

- **Enriquecimiento social:** incluye el contacto con sus congéneres (especies gregarias deben alojarse en grupos o en parejas) o sin contacto (visual, auditiva, olfativa) con otros individuos; la socialización entre los animales puede ser de la misma especie (**intraespecíficas**) y/o las que se establecen con individuos de otras especies (**interespecíficas**), incluidos los humanos. ⁽²⁷⁾

La experiencia social temprana apropiada puede ser esencial para el desarrollo de un repertorio conductual normal; por lo tanto, las condiciones en las instalaciones de crianza juegan un papel importante en la determinación de la aptitud posterior de los animales como sujetos experimentales o futuros reproductores. ⁽²⁸⁾

- **Enriquecimiento físico:** incluye alojamientos, la provisión de una cantidad adecuada de espacio, materiales para manipular, estímulos sensoriales y una dieta variada. Para prevenir o reducir las conductas inducidas por el estrés, se

debe otorgar a los animales cierto grado de control sobre su entorno, fomentando el ejercicio físico apropiado a su especie, la búsqueda de alimento y actividades cognitivas. ⁽²⁸⁾

2.4.2 Enriquecimiento ambiental en ratones.

En ratones el enriquecimiento social es importante, ya que son animales gregarios, los animales alojados juntos deberían ser compañeros de camada, pero este arreglo podría no ser posible en la mayoría de los casos debido al tamaño del grupo y posible sesgo en el estudio. ⁽²⁷⁾ El contacto social puede consistir en cualquier variedad de interacciones entre los animales desde solo contacto visual o comunicación auditiva. Otros tipos de enriquecimiento tienen como objetivo estimular otros sentidos que no sean el tacto o el gusto, pero se han usado con menos frecuencia.

Los ejemplos incluyen la provisión de música o ruido blanco y el uso de estímulos olfativos como la vainilla. ⁽²⁹⁾

Para el enriquecimiento físico se les puede proporcionar ruedas para correr, refugios de escondite como tubos de cartón y PVC, de forma y tamaños distintos como se muestra en la Figura 4, pueden estar enterrados o sobre la superficie y de colores oscuros; materiales de anidación, este debe ser un material blando y absorbente que puedan triturar y manipular al gusto como viruta de papel o madera, rollos de algodón o papel de seda; este enriquecimiento es importante para los ratones porque les permite crear microambientes apropiados para descansar y reproducirse. ⁽²⁷⁾



Figura 4. Enriquecimiento ambiental en ratones. ⁽³⁰⁾

www.nc3rs.org.uk

2.4.3 Enriquecimiento ambiental en ratas.

El enriquecimiento social con contacto causa un aumento del estado de alerta y del comportamiento exploratorio, proporciona distracción, ocupación y probablemente también desarrolla algunos sentimientos de seguridad en grupos estables. ⁽²⁷⁾ El contacto con humanos (por ejemplo, manejo, entrenamiento y socialización) generalmente beneficia tanto a los animales como a los resultados de los experimentos porque permite la interacción positiva entre el animal y los cuidadores, alumnos e investigadores. ⁽²⁷⁾

El enriquecimiento físico consiste en proporcionar cajas que sirvan como refugios para descansar, realizar ejercicios de escalada; material para roer, ver Figura 5 (por

ejemplo, bloques de madera blanda, pellets duros, tubos de cartón) para evitar el crecimiento excesivo de los dientes y evitar la masticación estereotípica de barras. Las ruedas para correr, cuerdas, cordones y las cadenas para escalar también pueden ser beneficiosos para los roedores. ⁽³¹⁾



Figura 5. Enriquecimiento ambiental en ratas. ⁽³²⁾

www.nc3rs.org.uk

2.4.4 Enriquecimiento ambiental en conejos.

Para proporcionar un enriquecimiento social adecuado, se les debe de dar espacio suficiente para permitir la vivienda grupal, hacer ejercicio y permitir el enriquecimiento esencial de modo que los animales puedan realizar una amplia gama de comportamientos normales.

La vivienda puede ser en grupos estables y compatibles que sean establecidos con animales inmaduros de la misma edad y sexo, tan pronto como sea posible después del destete.

Los conejos machos enteros deben separarse de los otros machos en la madurez sexual (12 a 14 semanas) y alojarse individualmente con contacto visual y olfativo con otros conejos.

Para un enriquecimiento social sin contacto se puede tomar conejos macho alojados individualmente fuera de la jaula y dejarlos correr en un corral con diferentes objetos; esto puede ser un enriquecimiento, ya que se les da un cambio de ambiente, olores de otros conejos machos que estimulan el marcado de olores y la oportunidad de moverse en un área más grande, que puede ayudar a reducir la obesidad. Colocar barreras visuales permiten que los animales inicien o eviten el contacto social. ⁽³³⁾

El enriquecimiento físico adecuado incluye paja, heno, palitos de madera para masticar, cajas de cartón, colocación de áreas elevadas que les permita escalar y explorar su alrededor, ruido de fondo, sustituir madrigueras por cajas de plástico, secciones de tubería de PVC de tamaño adecuado como se ve en la Figura 6; para permitir que los animales se alejen de situaciones que les provoquen miedo. ^(33, 34)

Para roer hay juguetes masticables como aros, pesas de plástico, bloques de madera; dar juguetes con cascabeles y campanas son ideales para ellos ya que les encanta hacer ruido arrojándolos al aire. Proporcionar bastante sustrato como viruta puede estimular la excavación de túneles y madrigueras. ⁽³⁴⁾



Figura 6. Enriquecimiento ambiental en conejos. ⁽³⁵⁾

www.nc3rs.org.uk

2.5 Bienestar animal.

La Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) define el bienestar animal como: *“Estado dinámico de un individuo en relación con los mecanismos biológicos que utiliza para adaptarse positiva y exitosamente ante los cambios del ambiente, involucrando salud, confort y el estado emocional del mismo”*. Dichas necesidades conductuales, ambientales y alimentarias estarán influenciadas por variables como la raza, edad, sexo y fin zootécnico. ⁽¹⁹⁾

Por otra parte, las respuestas de un individuo al entorno estarán determinadas por las características anatómicas, fisiológicas y de comportamiento resultado de la evolución de su especie y por el aprendizaje a lo largo de su vida (adaptación).

Existen indicadores del bienestar clasificados en tres grupos.

a. Conductuales: son una variedad de comportamientos normales, presentes o suprimidos; así como, la presencia y el grado de conductas de aversión.

b. De salud: principalmente las que se verán reflejadas en el estado inmunológico, la prevalencia de enfermedades y/o de lesiones, la condición corporal y la tasa de crecimiento.

c. Fisiológicos: como la frecuencia cardiaca, temperatura corporal, niveles de hormonas relacionadas con el estrés (glucocorticoides: cortisol y corticosterona); y sus metabolitos. ⁽¹⁹⁾

Las dimensiones del bienestar animal se incluyen en las “cinco libertades” o provisiones para los animales, emitidas por el Consejo del Bienestar Animal en Granjas del Reino Unido (FAWC).

1. Libres de hambre, sed y desnutrición: acceso al agua limpia y a una dieta capaz de mantener sus requerimientos nutricionales.

2. Libres de malestar: disponer de un alojamiento limpio, de un ambiente que incluya áreas de descanso cómodas, con dimensiones que les permitan desplazarse, libres de frío, calor, incomodidad e inmovilidad.

3. Libres de dolor y enfermedad: atendidos en sus padecimientos y enfermedades. Tener protocolos de analgesia, anestesia y bioseguridad en la unidad de producción.

4. Libres de expresar su comportamiento normal: disponer de espacio, infraestructura, compañía de animales, de acuerdo con las necesidades de su especie y proveer enriquecimiento ambiental.

5. Libres de miedo y angustia: deben contar con condiciones óptimas a fin de evitarles sufrimiento, aislamiento, golpes, heridas. ^(19,20)

Estas dimensiones se pueden llevar a cabo proporcionando dentro del bioterio un adecuado plan de enriquecimiento ambiental.

III.- NORMATIVIDAD NACIONAL ACERCA DEL USO Y CUIDADO EN RATONES, RATAS Y CONEJOS.

En México, la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), publicó en el Diario Oficial del Gobierno Mexicano el 28 de junio de 2001 la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999: "Especificaciones técnicas para la Producción, Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio". Con la publicación de esta norma se les proporciona a los investigadores mexicanos una importante ayuda para el buen éxito de su actividad científica. Esta norma está basada de la Guía Canadiense; en Canadá existe el Canadian Council on Animal Care (CCAC) es una organización nacional responsable de establecer y mantener estándares para el uso ético y el cuidado de los animales en la ciencia.

En México, existe el reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación para la salud; se da una breve mención al uso de animales en investigación en el título 7º, artículos 121 al 126.

La constitución de la Ciudad de México (En vigor el 17 septiembre de 2018), Artículo 13. Ciudad habitable, hace mención sobre la protección de los animales: Esta constitución reconoce a los animales como seres sintientes y por lo tanto, deben recibir trato digno. En la ciudad de México toda persona tiene un deber ético y

obligación jurídica de respetar la vida y la integridad de los animales; estos por su naturaleza son sujetos de consideración moral.

Dentro del marco legal en México para la experimentación con animales, está la Ley de protección a los animales de la Ciudad de México (Reformado G.O. CDMX 27 de junio de 2017); Capítulo VII, Artículo 47 menciona que los experimentos que se lleven a cabo con los animales, se realizarán apegados a las NOM cuando estén plenamente justificados ante los comités institucionales de bioética.

Existen otras normas oficiales mexicanas que son de importancia conocer como la NOM-051-ZOO-1995 “Trato humanitario en la movilización de animales”, la NOM-033-SAG/ZOO-2014 “Métodos para dar muerte a los animales domésticos y silvestres”.

Existen asociaciones las cuales se encargan de la difusión acerca del cuidado de animales de laboratorio como la Asociación Mexicana de la Ciencia de los Animales de Laboratorio (AMCAL), la cual se encarga de publicar información actualizada con pláticas, talleres prácticos, apoyando a profesionistas a obtener la certificación internacional por parte de American Association for Laboratory Animal Science (AALAS), apoyándose de la Guía para el cuidado y uso de los animales de laboratorio la cual proporciona información básica sobre el manejo de animales (tamaño de jaula, macroambiente y microambiente, alimento, cama, agua, entre otros), el cuidado que debe tener el veterinario hacia ellos (monitoreo de salud, procedimientos de la cuarentena, anestesia, eutanasia, entre otros), las instalaciones físicas (diseño del bioterio, pisos, paredes, techos, almacenamiento entre otros).

La Comisión Europea es una de las siete instituciones de la Unión Europea. Muestra el poder ejecutivo y la iniciativa legislativa. En su marco legislativo sobre la experimentación animal, tiene la Directiva 86/609/CEE relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas de los Estados Miembros respecto a la protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos; en el año 2010 se formó una nueva Directiva 2010/63/EU relativa a la protección de los animales utilizados para fines científicos; estos dos decretos establecen las normas básicas aplicables para la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos, incluyendo la docencia.

En todo el mundo existen distintas asociaciones, federaciones, colegios, comités, y consejos, enfocados a proporcionar información acerca del uso y cuidado de los animales de experimentación; si usted está interesado en conocer más sobre otras asociaciones puede consultar el anexo.

IV.- COMITÉS ENCARGADOS DEL CORRECTO USO DE ANIMALES DE LABORATORIO.

A nivel mundial ha sido una preocupación creciente el aplicar las tres erres, pero sobre todo reducir al máximo el uso de animales de laboratorio; en la necesidad de trabajar con animales en la investigación, se debe conocer que se les tiene que dar una protección física, emocional y evitar el máximo cualquier tipo de dolor y sufrimiento, por lo que se han elaborado leyes y normas (de cumplimiento obligatorio), así como instancias que vigilen su cumplimiento. Dichas instancias

funcionan como comités que supervisan el trato ético de los animales. En México se les conoce como:

- Comité Interno para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL),
- Comité Institucional para el Cuidado y Uso de los Animales de Experimentación (CICUAE),
- Comité Interno para el Cuidado y Uso de los Animales para Experimentación y Enseñanza (CICUAEE),
- Comité de Investigación en Animales (CINVA),
- Comité de Ética en Investigación, Docencia y Bienestar Animal (CEIDBA).

La norma NOM-062-ZOO-1999 marca que debe existir un Comité Interno para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (CICUAL), cuya función es la de asegurar la existencia de un mecanismo institucional encargado de revisar que el cuidado y uso de los animales de laboratorio con propósitos de investigación, pruebas y/o enseñanza, sea de manera apropiada y humanitaria.

Un comité estará formado por investigadores, médicos veterinarios, médicos cirujanos, biólogos y el jefe de la unidad de producción de animales de laboratorio.

En la Facultad de Química existe el Plan Institucional para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio, en lo sucesivo PICUAL, define las líneas de autoridad, responsabilidad y cumplimiento de las leyes, reglamentos y normas aplicables vigentes en el país, aplicables para el mantenimiento, reproducción y utilización de animales con fines de investigación científica; así como la implementación de procedimientos de evaluación, cuidados médicos veterinarios apropiados,

programas de salud ocupacionales, prácticas aceptables de crianza animal y mantenimiento adecuado de las instalaciones que alojan animales. ⁽³⁶⁾ Para más información consultar las disposiciones generales del PICUAL.

V.- REQUISITOS MÍNIMOS PARA EL CUIDADO DE ANIMALES DE LABORATORIO.

Es indispensable que los espacios arquitectónicos sean construidos y diseñados con el propósito para la producción, mantenimiento, investigación y enseñanza de las especies que se alojarán en dicho bioterio. El ambiente en el cual se mantienen los animales será el apropiado para cada especie, permitiendo que tengan cubiertas sus necesidades fisiológicas, mentales y con ello poder vivir con un nivel de bienestar aceptable, disminuyendo conductas inducidas por estrés.

El ambiente de los animales de laboratorio está constituido por el microambiente y el macroambiente, ver Figura 7.

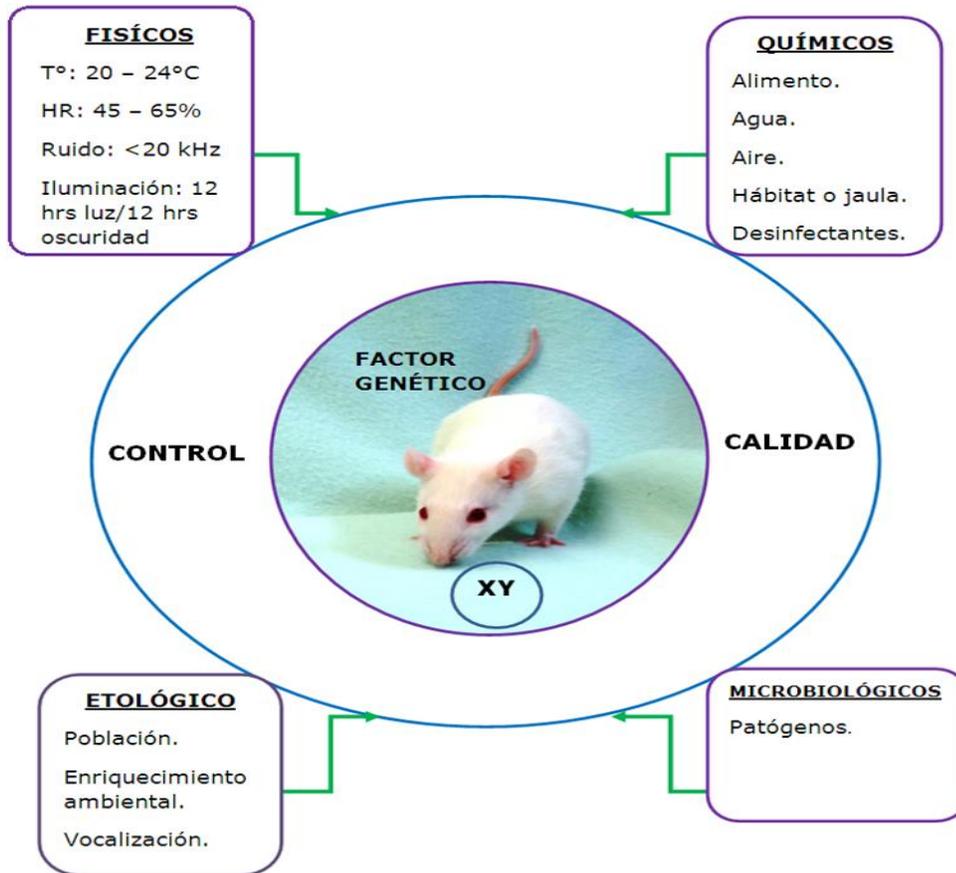


Figura 7. Factores ambientales. Rodríguez S. 2017.

El macroambiente o encierro secundario está constituido por la habitación:

Espacio (cm²), iluminación, temperatura, ventilación y humedad relativa, ausencia de ruido y polvo, entre otros.

El microambiente constituye el encierro primario del animal, determinado por el hábitat o jaula y todo lo que en él se incorpora, como: lecho; agua; alimento, número de animales y objetos de enriquecimiento.

Sus componentes deben satisfacer las necesidades fisiológicas, de conducta y las interacciones sociales entre individuos de la misma especie, así como el establecimiento de jerarquías dentro del encierro. ⁽³⁷⁾

Es importante recalcar que actualmente existen animales con controles microbiológicos muy estrictos (gnotobióticos), creando la necesidad de formar microclimas con áreas estériles, lo que ocasiona utilizar equipos con tecnología diseñada para lo mismo.

Para más información sobre los requerimientos para el cuidado de animales de laboratorio, puede revisar anexos para consultar páginas de internet de distintas asociaciones, lugares de venta de alimento, venta de equipos y venta de animales de laboratorio.

Es muy importante recordar que a cualquier persona que haga uso de animales de laboratorio debe considerar que debe de administrar correctamente sus pedidos, ya que, para entregar un grupo de ratas o ratones, se debe de hacer una solicitud previa con 12 a 14 semanas de anticipación, para garantizar la entrega de animales.

VI. MODELOS ANIMALES Y CARACTERÍSTICAS DE LAS ESPECIES.

Muchos investigadores consideran al ratón como un modelo animal casi perfecto porque además de su corto tiempo generacional, alta capacidad reproductiva, son animales de los que se tiene más información acumulada a través de los estudios genéticos, fisiológicos, anatómicos, etc. ⁽³⁷⁾ En la Figura 8 se muestran los modelos animales que más se utilizan en investigación.

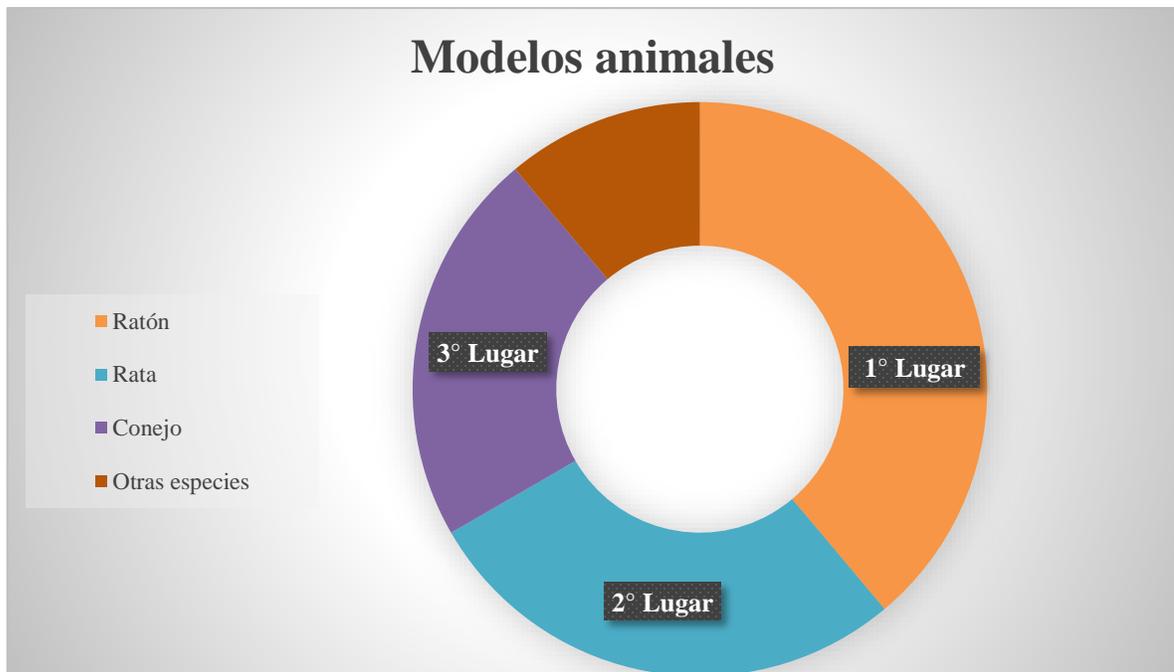


Figura 8. Modelos animales más utilizados. ⁽³⁷⁾

Dentro de los modelos de experimentación sin duda, el ratón es el más conocido y utilizado en la mayor parte de las prácticas de biología y medicina, es en general el modelo elegido para conocer la reacción de un organismo mamífero frente a una agresión, una intoxicación o una infección experimental (parasitaria, bacteriana o vírica); reacciones o trastornos inmunológicos, oncología, teratología y embriología.

⁽³⁷⁾

No existe una especie que cumpla con todos los requisitos para ser fiel representante en la investigación biomédica, por lo tanto, siempre se están buscando especies que sean afines a los intereses de los investigadores y para un beneficio de la humanidad.

6.1 Ratón (*Mus musculus*).

Varias décadas de crianza en ratones, han proporcionado una amplia gama de variantes genéticas que están bien caracterizadas anatómica y fisiológicamente; como resultado, el ratón es el animal de investigación más utilizado como modelo animal. Su alta fecundidad (potencial reproductivo), gestación corta y corta vida, los hace ser modelos animales útiles para estudios de teratología, genética y gerontología. La disponibilidad de ratones que son susceptibles a virus específicos y al desarrollo de tumores, los hacen útiles en temas de oncología y virología.

Los estudios de histocompatibilidad tisular son posibles debido a la disponibilidad de cepas endogámicas bien caracterizadas de ratones. Esta ha mejorado enormemente la investigación relacionada con el trasplante de órganos. ⁽¹³⁾

Los ratones también son utilizados en estudios de diabetes, enfermedad renal, comportamiento, giardiasis, obesidad y una variedad de enfermedades autoinmunes. ⁽¹³⁾

Taxonomía:

Clase: *Mamífera*

Orden: *Rodentia*

Familia: *Muridae*

Género: *Mus*

Especie: *Mus musculus*

6.1.1 Anatomía:

Los ratones tienen varias características que los distinguen de la mayoría de otras especies, por ejemplo, son muy susceptibles a la deshidratación y la hipotermia, también por su rápido metabolismo tienen una gran demanda de oxígeno y de energía, ocasionando hipoglucemia e hipoxia. ⁽³⁸⁾

TERMORREGULACIÓN.

Para refrescarse utilizan la vasoconstricción periférica de las extremidades como la cola y las orejas, esto contribuye a desviar el calor a otras partes más importantes del cuerpo. También utilizan para refrescarse la evaporación de la saliva, que previamente se extienden por el cuerpo. ⁽³⁸⁾

SISTEMA ESQUELÉTICO.

Las principales características anatómicas del esqueleto del ratón son la adaptación del cráneo a un cerebro respectivamente pequeño, estructuras del hueso nasal relativamente grandes y la presencia de una cola larga. En ratones, el hueso pélvico y escapular están adaptadas para el cuadripedalismo, pero esta especie exhibe locomoción plantígrada ⁽³⁹⁾ como se muestra en la Figura 9.

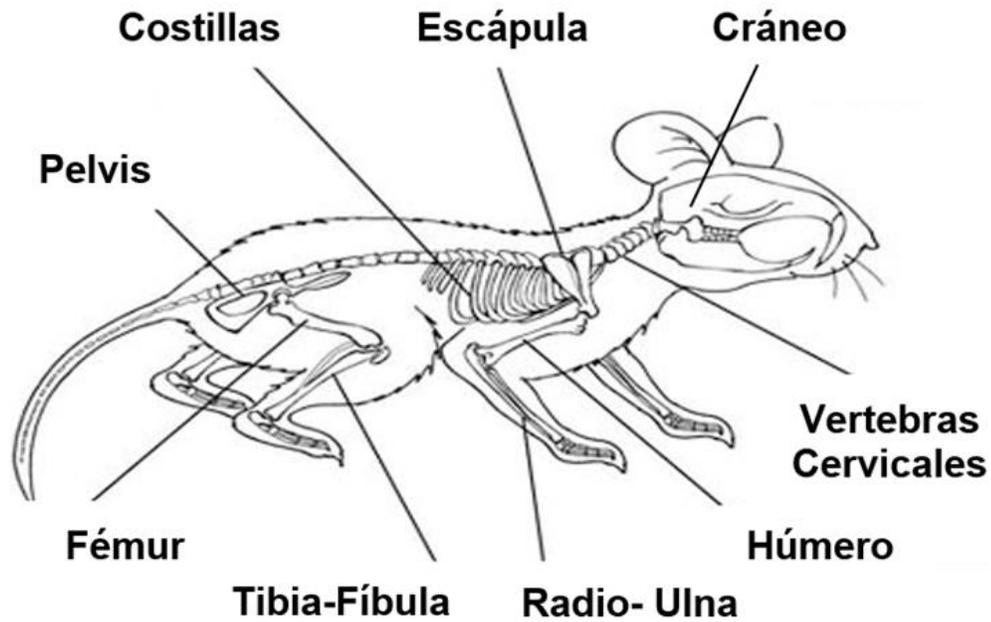


Figura 9. Esqueleto del ratón. Imagen editada de ©Sheri Amsel

www.exploringnature.org ⁽⁴⁰⁾

DENTICIÓN.

Una de sus particularidades es su capacidad de roer; tienen 16 dientes, pero sólo poseen un par de incisivos superiores, estos incisivos tienen la raíz abierta (arradiculares) y están en constante crecimiento desde la base. ⁽³⁸⁾

La fórmula dental del ratón es 2 (1/1 incisivos, 0/0 caninos, 0/0 premolares y 3/3 molares).

SISTEMA DIGESTIVO.

Las funciones del tracto gastrointestinal superior incluyen el transporte del bolo alimenticio ingerido, la digestión enzimática y la absorción de nutrientes.

Los ratones presentan un tracto digestivo simple; entre el esófago y la zona del cardias existe una cresta que impide la regurgitación y que imposibilita el vómito.

El estómago está ubicado en el abdomen craneal izquierdo y está parcialmente cubierto por el lóbulo hepático lateral izquierdo, el estómago es monocavitario constituido por la porción del cardias (no glandular) y el pilórico (glandular).

El ratón tiene un gran ciego saculado (que interviene en la digestión bacteriana de la celulosa) y un colon largo como se ve en la Figura 10, donde poseen una abundante microbiota, ya que no tienen apéndice. ⁽³⁹⁾

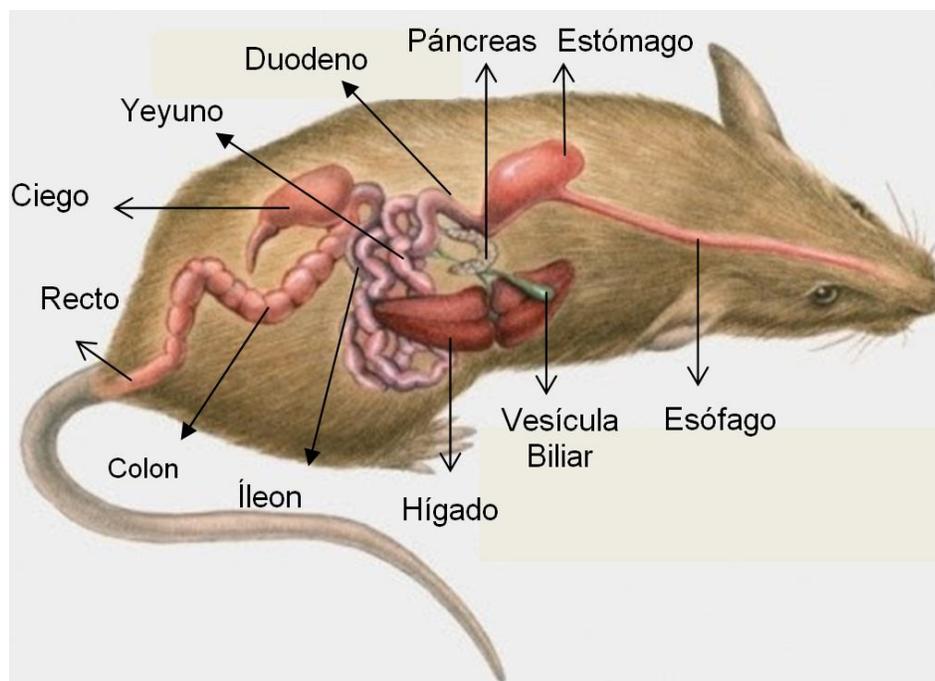


Figura 10. Sistema digestivo del ratón.

Imagen editada de www.gettyimages.es ⁽⁴¹⁾

SEXADO.

El sexo de los ratones puede determinarse comparando la distancia anogenital entre hembra y macho. En hembras la distancia entre el ano y la vulva es corta; los machos se distinguen por el saco escrotal que contiene los testículos y por la distancia larga entre el ano y el pene ⁽⁴²⁾ como se ve en la Figura 11.



Figura 11. Sexado en ratones. Lado izquierdo hembra, lado derecho macho. Imagen editada de Wayne State University. ⁽⁹⁾

6.1.2 Manejo:

Es importante que el manejador conozca fisiología y anatomía, para evitar lesionar a los animales y poder iniciar su manejo como el trasladar un ratón de un sitio a otro, el ratón puede ser sujetado por la parte media de la cola con los dedos, como lo demuestra la Figura 12.



Figura 12. Sujeción del ratón por la parte media de la cola.

Foto tomada en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM

Nunca se sujeta un ratón por la punta de la cola, ya que puede resultar en una pérdida de la piel y la exposición de las vértebras caudales.

Otra forma de sostener a un ratón es tomarlo de la base de la cola con el dedo pulgar e índice, colocándolo sobre una superficie que se pueda sujetar como una rejilla, justo cuando el ratón intente avanzar, se sostiene rápidamente de la piel suelta localizada en la parte posterior de cuello como se muestra en la Figura 13.

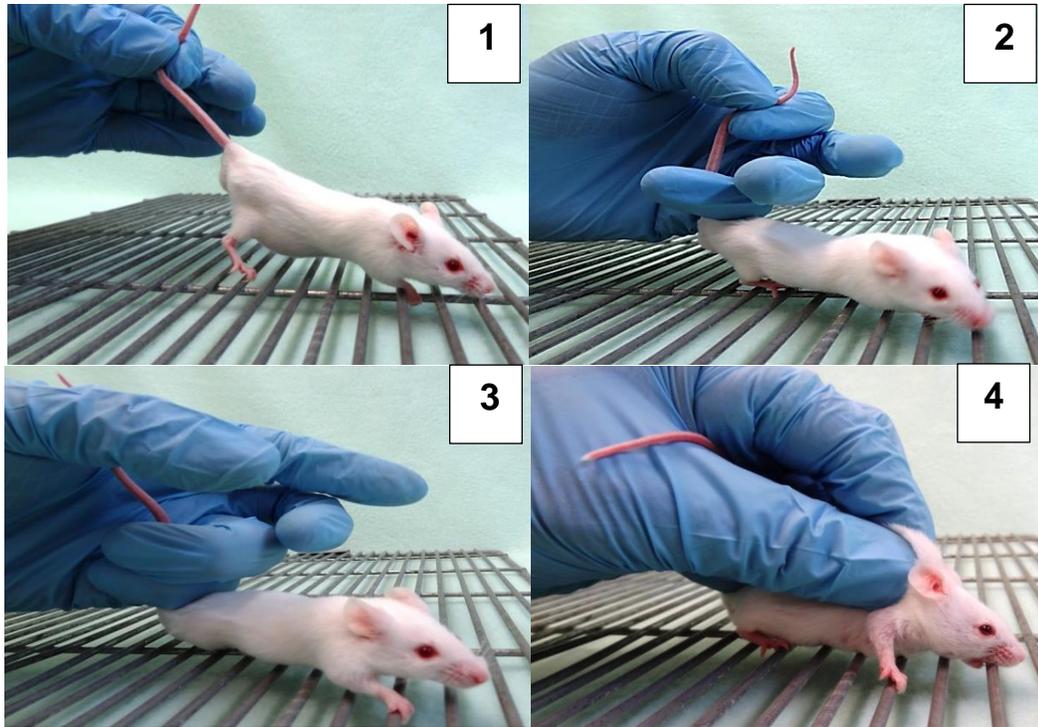


Figura 13. Pasos para sujetar un ratón de la piel.

Foto tomada en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM

Otra alternativa es hacerlo sobre una superficie lisa para sujetar al ratón, cuando se inmoviliza correctamente la cabeza del ratón, evitamos que pueda girar y nos pueda morder, así como se muestra en la Figura 14.

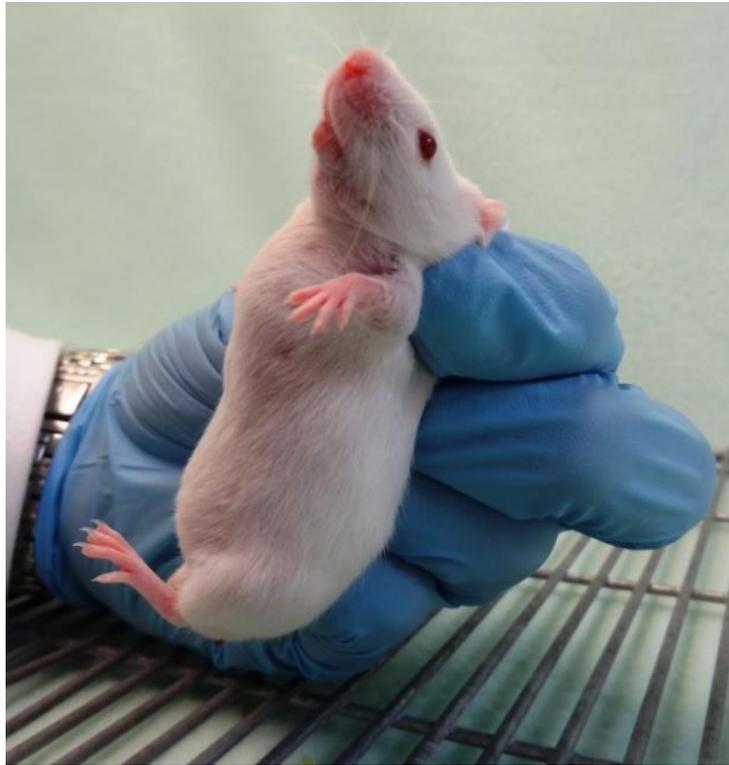


Figura 14. Sujeción correcta de un ratón.

Foto tomada en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM

6.2. Rata (*Rattus norvegicus*).

Los ancestros de la rata provienen de Asia Central, en la primera mitad de siglo XVIII la rata emigró hacia Europa, lo que originó el nombre de rata noruega, desplazando a la rata negra o de los tejados. Su domesticación como animal de laboratorio se remonta a un entretenimiento muy popular en Inglaterra, en el siglo XIX denominado muerde a la rata, que consistía en soltar perros terrier y ratas dentro del ruedo, los espectadores especulaban sobre el tiempo necesario para que un perro matara un número determinado de ratas, este entretenimiento dio la oportunidad para que se formaran criaderos que seleccionaron a ratas mutantes

con base en su color, albinos, negros y manchados. En 1890 se utilizaron en estudios de neuroanatomía en el instituto Wistar Washington de anatomía y biología de Filadelfia, en 1906 se inició la estandarización de esta cepa albina. ⁽⁴³⁾

En la actualidad la rata es una especie utilizada en toxicología, teratología y pruebas de carcinogénesis en la industria farmacéutica; también es utilizada para estudios del comportamiento, neurológicos, nutricionales y endocrinológicos. ⁽¹²⁾

Taxonomía:

Clase: *Mamífera*

Orden: *Rodentia*

Familia: *Muridae*

Género: *Rattus*

Especie: *Rattus norvegicus*

6.2.1 Anatomía:

Las ratas son mucho más grandes que los ratones, tienen cabezas cónicas y cuerpos cilíndricos cubiertos de piel gruesa. Sus piernas son cortas y tienen una cola sin pelo y comprende aproximadamente el 85% de la longitud del cuerpo. ⁽⁹⁾

TERMORREGULACIÓN.

La rata presenta un pelaje áspero y grueso con prominentes orejas desnudas y cola prácticamente desnuda y escamosa.

Las ratas no tienen mecanismos fisiológicos para permitir enfrentarse al calor, no pueden sudar, no pueden jadear; la cola y las orejas son importantes para la dispersión de calor gracias a la vasoconstricción o vasodilatación de los vasos de acuerdo con la temperatura ambiental. ⁽³⁸⁾

SISTEMA ESQUELÉTICO.

La rata tiene una clavícula bien desarrollada, con ligamentos que hacen que se parezca a la articulación del hombro humana como se ve en la Figura 15. Las manos están bien desarrolladas a diferencia del conejo, tienen la capacidad de flexionarse y sujetar la comida con las palmas. (38)

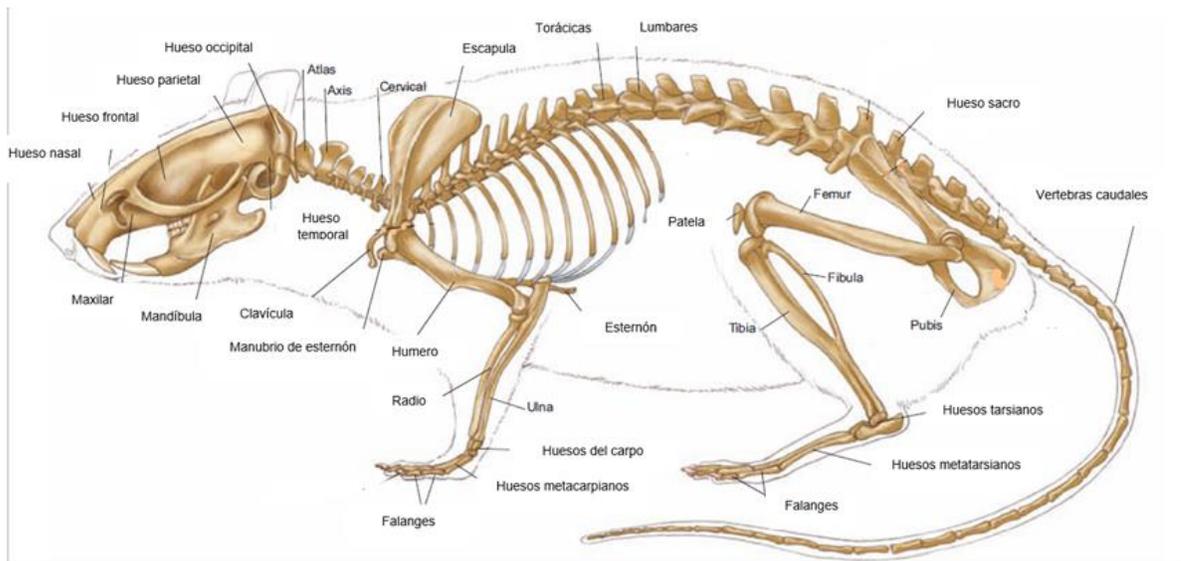


Figura 15. Esqueleto de rata.

Imagen editada del libro “Color atlas of small animal anatomy” (44)

DENTICIÓN.

Posee cuatro incisivos, dos superiores y dos inferiores, carece de caninos y premolares anteriores lo que ocasiona que haya un diastema. Sus incisivos crecen durante toda su vida a partir de la base, que va sustituyendo la porción desgastada por la actividad de cortar y roer materiales duros. La parte exterior del diente es más

dura y carece de nervio, salvo en la base. La fórmula dental es: 2(1/1 incisivos, 0/0 caninos, 0/0 premolares y 3/3 molares). ⁽⁴⁵⁾

SISTEMA DIGESTIVO

El estómago está dividido en dos porciones: no glandular y glandular, separadas por una cresta limitadora prominente que impide el vómito. La comida que entra en el estómago entra en la región no glandular llamada cardias y la segunda porción del estómago con una salida al duodeno es la porción pilórica y se caracteriza por un delicado epitelio glandular y pliegues prominentes. ⁽⁴⁶⁾

El hígado está dividido en cuatro lóbulos y no tiene vesícula biliar, los conductos biliares de cada lóbulo forman el conducto biliar común, que permiten el flujo de la bilis para que entre al duodeno. ⁽¹²⁾ El páncreas es un órgano muy difuso y lobulado como se muestra en la Figura 16.

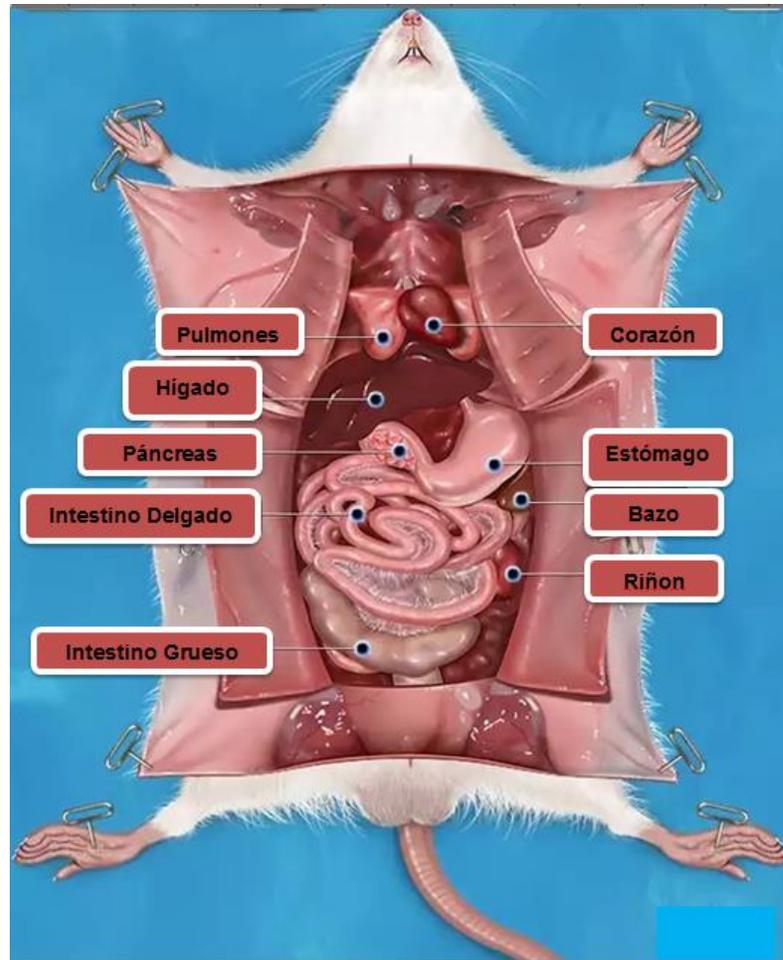


Figura 16. Anatomía de la rata. Imagen editada de <http://www.lifeinharmony.me> ⁽⁴⁷⁾

SEXADO.

El sexo se determina fácilmente en ratas mediante la observación de la región perineal. Los machos tienen un escroto localizado entre el ano y la apertura del prepucio; el pene a menudo es visible y es más grande que la papila uretral de la hembra. Además, la distancia entre el ano y la apertura genital es mayor en el macho que en la hembra ⁽¹²⁾ como se ve en la Figura 17.



Figura 17. Sexado en ratas. Lado izquierdo macho, lado derecho hembra.

Imagen editada del libro

“Ferrets, rabbits and rodents: Clinical medicine and surgery”.⁽⁴⁸⁾

6.2.2 Manejo:

El manipular o tener contacto físico con los animales implica conocer a profundidad su anatomía y conducta, para evitar dañarlos.

Si se sujeta por la cola, debe hacerse por la base de esta como se ve en la Figura 18 y Figura 19 se da la continuidad de la forma correcta de trasladar al animal.



Figura 18. Sujeción de rata por la base de la cola.

Foto tomada en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

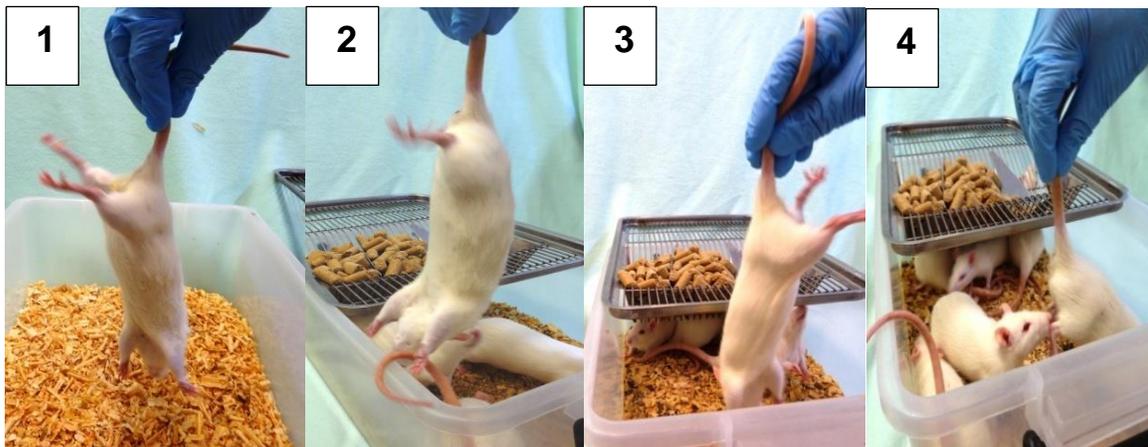


Figura 19. Sujeción para traslados cortos de una rata. Foto tomada en

Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

Inmovilizar no es sinónimo de forzar ni de apretar con fuerza al animal, significa restringir sus movimientos, poner una barrera, en este caso física, que impida moverse.

Existen diferentes maniobras de sujeción para ratas de laboratorio, pero se debe elegir la más adecuada de acuerdo con el procedimiento, teniendo en cuenta dos aspectos: primero, que la maniobra elegida deje expuesta la parte del cuerpo del animal en el que se precisa trabajar; y segundo, la habilidad, seguridad y preferencia de la persona que va a realizar la sujeción. ⁽⁴⁹⁾

Una forma para sujetar a la rata implica tomarla de la base de la cola, a medida que se va moviendo hacia adelante, con la otra mano se sujeta firme la parte de la caja torácica, el dedo índice queda por debajo de la mandíbula de la rata, con el dedo pulgar se empuja el codo para que la pata de rata quede al frente de su hocico, ocasionando que la nuca quede sujeta en la falange del dedo índice del sujetador, evitando que el animal pueda salirse hacia arriba o hacia abajo y la cabeza no tenga movilidad; con la mano que estaba deteniendo la cola, se puede ahora sujetar también las patas traseras; al final el tórax debe de estar descubierto como se muestra en la figura 20.

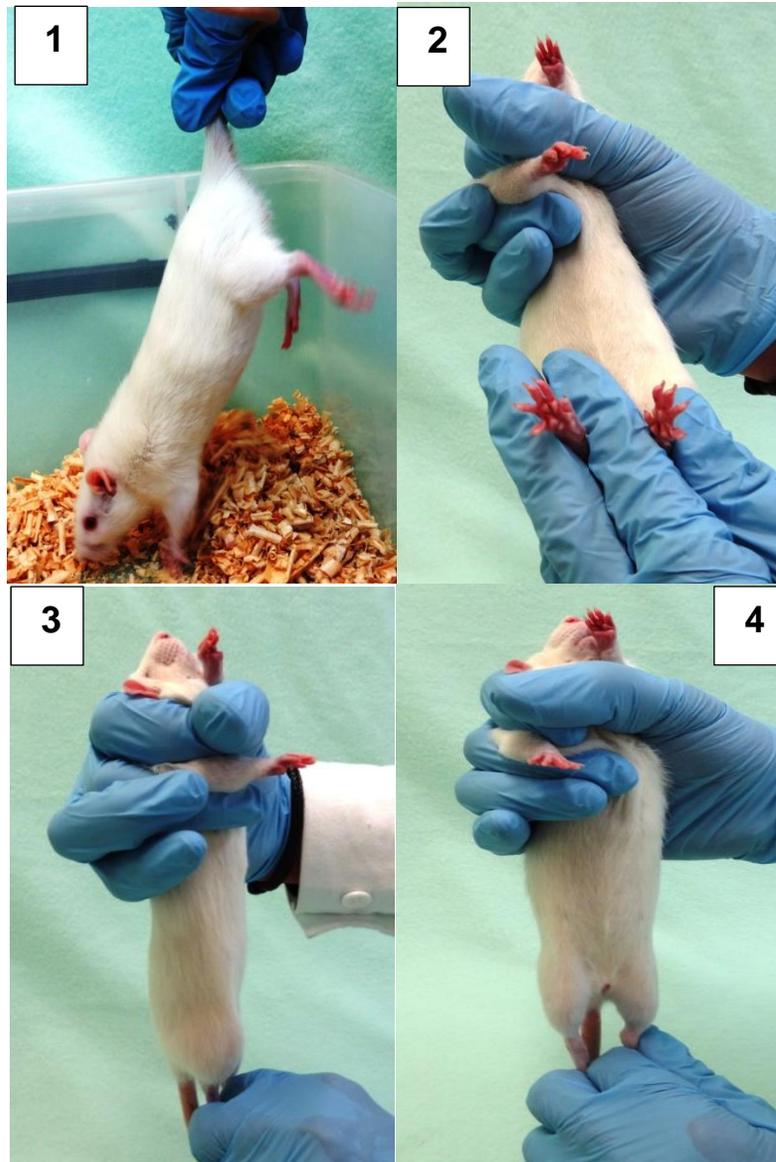


Figura 20. Pasos para sujetar una rata.

Foto tomada en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

Con este método de inmovilización se debe tener cuidado de no poner demasiada presión apoyarse en las clavículas para evitar compresión en el tórax de la rata, ya que esto puede dificultar la respiración y causar su muerte.

Siempre que se haga el movimiento para sujetar a una rata, debe de ser seguro, certero y con movimientos suaves. Es recomendable tener dos cajas, una en donde está el grupo de animales y otra donde se trabajará de forma individual a todas ellas.

6.3 Conejo (*Oryctolagus cuniculus*).

El conejo doméstico *Oryctolagus cuniculus*, pertenece al orden Lagomorfa, se diferencia de los roedores por el segundo par de incisivos superiores. ⁽⁵⁰⁾ la raza más utilizada es la Nueva Zelanda variedad albina; ⁽¹⁰⁾ esta raza fue creada por sus características de carne y piel, pero en 1925 en Estados Unidos fue reconocida y comenzó a ser utilizada como animal de laboratorio, pero desde mediados del siglo XIX, los conejos eran utilizados cada vez más como modelos de investigación para toxicología, modelo de aterosclerosis, traumas espinales, enfermedades infecciosas, vacunología, embriología y estudios inmunológicos especialmente en las estructuras de inmunoglobulinas, el control genético de su formación y producción de anticuerpos policlonales. ^(12,51)

Taxonomía:

Clase: Mamífera

Orden: Lagomorpha

Familia: *Leporidae*

Género: *Oryctolagus*

Especie: *O. cuniculus*

6.3.1 Anatomía:

El conejo posee largas orejas peniformes, que se mueven con total libertad. En las orejas existe una arteria central muy visible y venas periféricas que forman unos grandes canales arteriovenosos cuando aumenta la temperatura.

Tienen un labio superior con una hendidura media, de ahí el término “labio leporino”; el cuello tiene un pliegue de piel colgante llamado papada, que es más pronunciado en la coneja y en ciertas razas. El conejo también tiene un tercer párpado bien desarrollado, que cubre el ojo cuando el animal duerme o durante la anestesia. ⁽³⁸⁾

TERMORREGULACIÓN.

Los conejos son extremadamente sensibles al calor y por ello deben mantenerse en ambientes comprendidos entre 15 y 21°C. El conejo no puede sudar y tiene un sistema de salivación y de jadeo muy poco eficaz.

Las largas orejas son también esenciales para la dispersión del calor; si se enfrían directamente las orejas se produce una baja de temperatura corporal.

Las altas temperaturas les impiden beber y jadear, lo que puede conducirles a la deshidratación y a la muerte. ⁽³⁸⁾

SISTEMA ESQUELÉTICO.

El esqueleto de un conejo es frágil en comparación con su pesada musculatura como se en la Figura 21. Por ejemplo, en la raza Nueva Zelanda el esqueleto representa el 6-7% de la masa corporal, mientras el total de músculos forman el 56%. ⁽⁵²⁾ Uno de los resultados de este bajo peso del esqueleto es la fragilidad ósea ocasionando facilidad de fracturas; si la columna del conejo no tiene un soporte mientras lo levantamos, los pesados miembros posteriores flexionaran la unión

lumbosacra pudiendo causar fracturas. ⁽³⁸⁾ Por esta razón el manejo y manipulación debe hacerse con las reservas pertinentes de no causar lesiones.

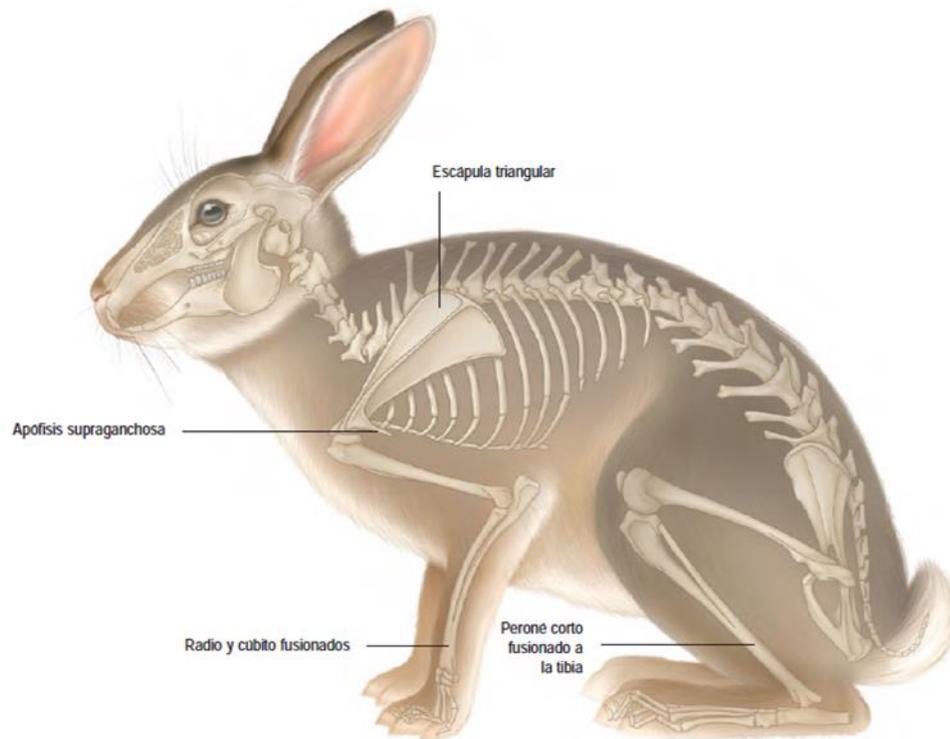


Figura 21. Esqueleto del conejo.

Imagen de Victoria Aspinall, 2006. ⁽⁵³⁾

DENTICIÓN.

No presentan caninos y los incisivos están separados de los premolares por un espacio denominado diastema, como se muestra en la Figura 22.

Los incisivos principales tienen un borde cortante que les sirve para mordisquear el alimento, mientras que los premolares y molares son más planos y con cresta, para triturar la hierba y heno fibrosos; sus dientes crecen durante toda la vida. ⁽⁵⁰⁻⁵³⁾

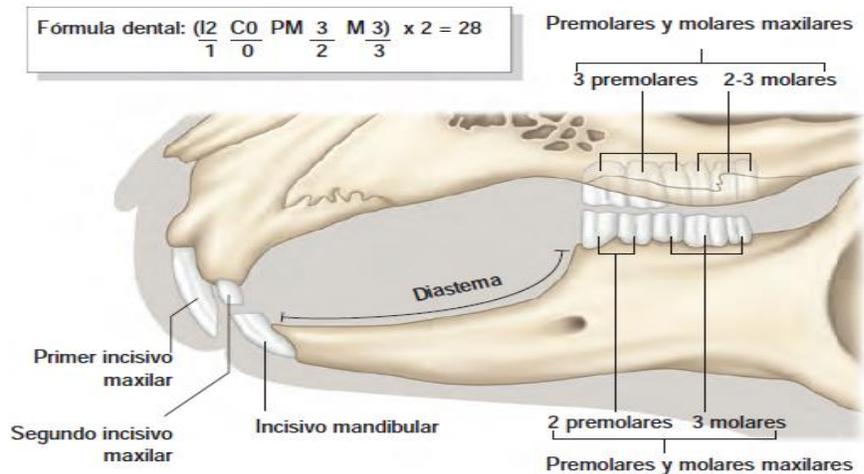


Figura 22. Fórmula dental del conejo.

Imagen de Victoria Aspinall, 2006. ⁽⁵³⁾

SISTEMA DIGESTIVO.

Los conejos son fermentadores intestinales y realizan cecotrofia. El sistema digestivo incluye un estómago glandular grande, un intestino delgado largo y un ciego agrandado que contiene microbiota y es el sitio principal de la digestión de la celulosa. ⁽¹⁰⁾

El estómago se divide en fondo, antro y píloro; el esfínter cardial (esofágico) como el pilórico están bien desarrollados, lo que ocasiona que el conejo sea incapaz de vomitar. El duodeno, el yeyuno y el íleon son largos, con una luz pequeña. El íleon termina en el ciego, en una estructura denominada saco redondo o apéndice ileocecal dentro de la cual se halla una red de folículos linfoides, llamado amígdala cecal o intestinal. El ciego es el órgano más grande de la cavidad abdominal, como se muestra en la Figura 23 y ocupa la mayor parte del lado derecho. Es de paredes delgadas, sacciforme y se enrolla sobre sí mismo, terminando en un apéndice vermiforme, que también contiene material linfoide.

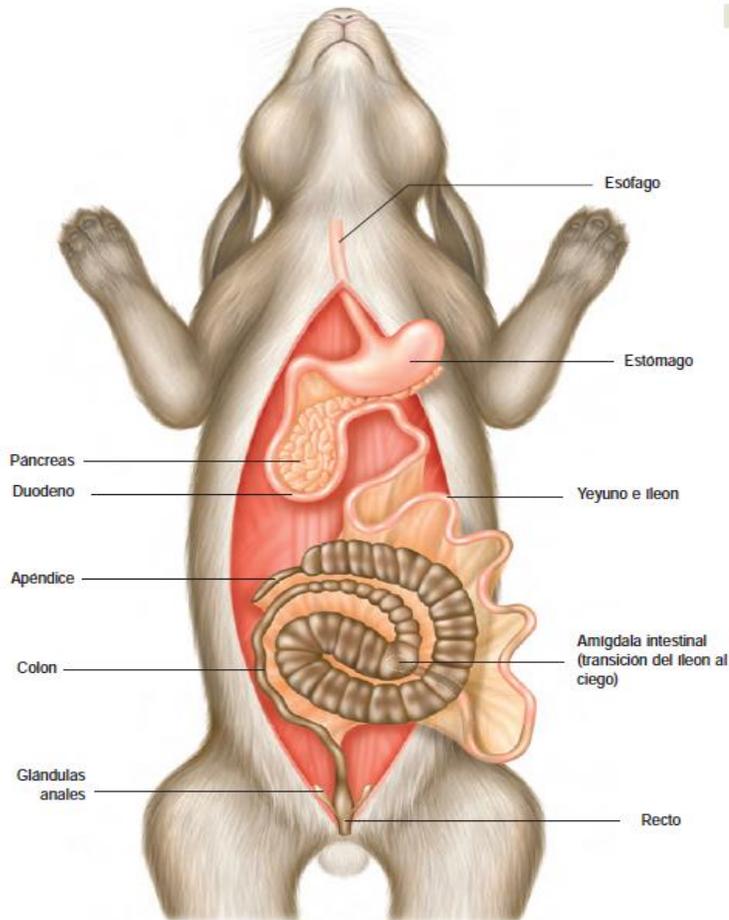


Figura 23. Sistema digestivo del conejo.

Imagen de Victoria Aspinall, 2006. ⁽⁵³⁾

El ciego típicamente contiene alrededor del 40% de la ingesta, los materiales particulados finos son canalizados selectivamente en el ciego durante el paso a través del intestino grueso, mientras que el material particulado más grande generalmente se dirige al colon para que salga como bolo de heces duras. ^(52,53) El colon es de forma saculado y su musculatura produce contracciones peristálticas que mueven rápidamente la fibra a través del colon para la excreción de heces duras que saldrán por el recto. Para que el material fino se quede en el ciego, se producen contracciones antiperistálticas, para mover fluidos del colon hacia el ciego, donde

son retenidos para ser fermentados, en intervalos el ciego expulsa el contenido fermentado a través del colon para que el conejo lo consuma directamente del ano. Este último proceso se conoce como cecotrofia. Los contenidos cecales consumidos se denominan cecotrofos, estos aparecen como un grupo de pellets suaves en lugar de los bolos de heces duras, así los productos de crecimiento bacteriano están disponibles para el conejo ya sea por absorción directa o por consumo de los contenidos cecales. ⁽⁴⁸⁾

SEXADO.

Los conejos pueden sexarse aplicando una presión suave sobre el orificio genital para extruir el órgano genital como se demuestra en la Figura 24.



Figura 24. Manejo para sexar conejo.

Foto tomada en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

En el macho, el pene se extrae. Los testículos generalmente se pueden ver en los sacos escrotales de conejos sexualmente maduros (> 10-12 semanas) aunque pueden retraerse durante períodos de estrés, enfermedad o escasez de alimentos. En la hembra, la vulva es extraída, esta puede verse similar a un pene pequeño, pero es más corta, menos redonda y tiene una hendidura como apertura en lugar del orificio circular del macho ⁽⁵⁴⁾ como se ve en la Figura 25.

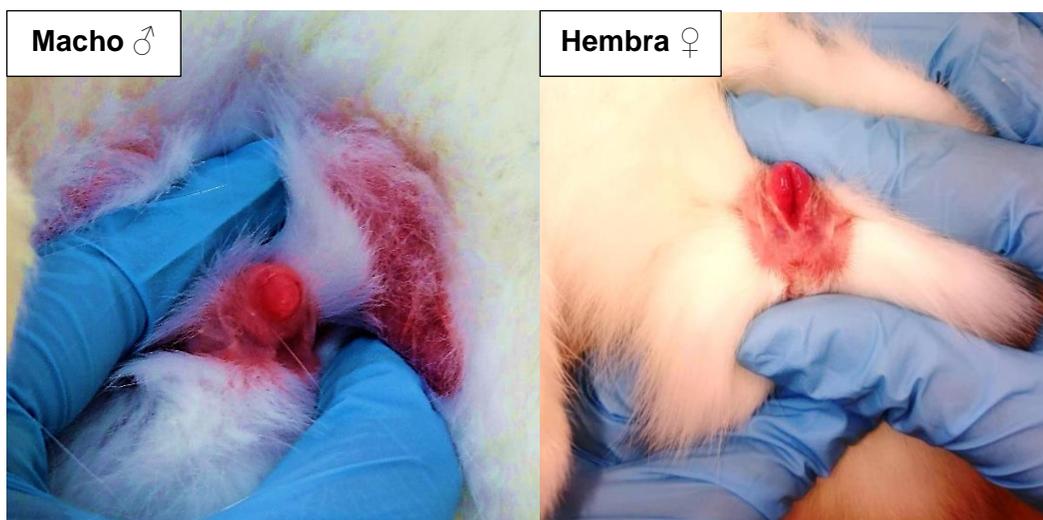


Figura 25. Sexado en conejos. Lado izquierdo macho, lado derecho hembra. Fotos tomadas en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

6.3.2 Manejo:

Se realiza con una mano sujetándolo de la piel floja en la región del dorso y la nuca del conejo, con la otra mano se le sujeta por debajo de los muslos como si se fuera a sentar sobre la palma de la mano, con el objetivo de sostener el peso del animal, como se ve en la Figura 26.



Figura 26. Pasos para sujetar un conejo.

Fotos tomadas en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

Para transportar al conejo distancias largas se realiza su sujeción, colocándolo debajo del antebrazo, haciendo presión con el dorso, luego abrazar al animal por la región posterior de su cuerpo, de tal manera que debe quedar prensado entre el brazo y el cuerpo del operador, como se ve en la Figura 27.



Figura 27. Sujeción para transportar un conejo.

Foto tomada en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

Si se les maneja de forma inadecuada, estos animales forcejean, pudiendo producirse una fractura a nivel lumbo-sacra o dañar al que los manipula con las uñas de miembros posteriores, es recomendable mantenerlos en jaulas, cepos o cajas. En cualquier caso, conviene recordar que las orejas del conejo son sumamente frágiles y sensibles, por lo tanto, evitar emplearlas para sujetar o levantar a los animales.

VII. VÍAS CORRECTAS DE ADMINISTRACIÓN DE SUSTANCIAS.

La vía de administración puede definirse como el sitio donde se administra un compuesto farmacológico. Las vías dependen de las necesidades clínicas y de las circunstancias, ya que los fármacos pueden ser introducidos en el organismo en una variedad de vías.

Las vías de administración se han dividido en dos clases:

- 1.- Parenteral (Vía subcutánea, vía intramuscular, vía intravenosa y vía intraperitoneal).
- 2.- Enteral (Vía oral).

Siempre que se trabaje con animales de laboratorio se deben de utilizar materiales nuevos, estériles y de preferencia que la jeringa sea de plástico con aguja hipodérmica desprendible y desechable. ⁽⁵⁵⁾

Antes de administrar sustancias es importante conocer que existen distintas medidas y calibres de agujas, cuanto mayor es el número del calibre, más fina es la aguja, así como se muestra en la Figura 28.

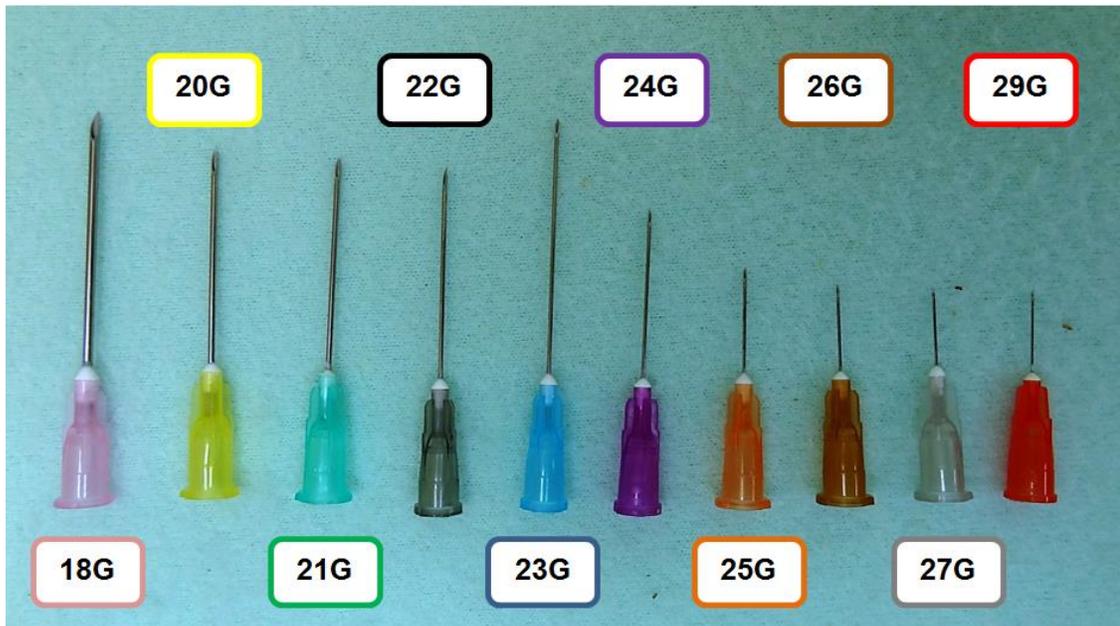


Figura 28. Calibres de agujas hipodérmicas.

Foto tomada en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

Una aguja hipodérmica está compuesta de diferentes partes, en la Figura 29 se ejemplifican las partes de una aguja.

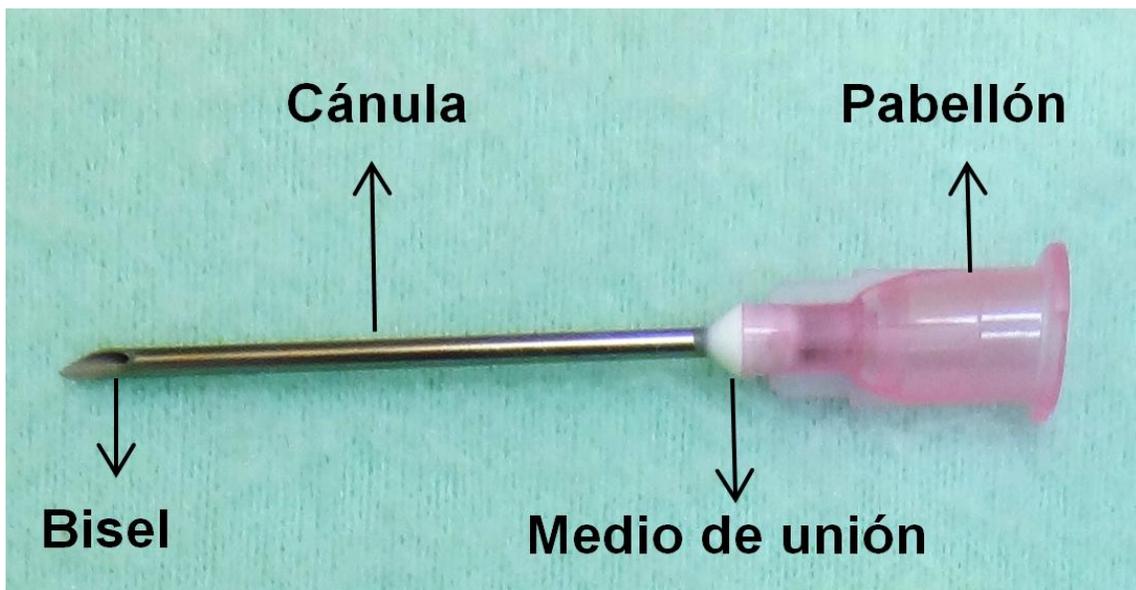


Figura 29. Partes de una aguja hipodérmica.

Foto tomada en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

Para administrar en vía intravenosa es muy importante recordar que siempre se debe de ingresar la aguja con los filos del bisel hacia arriba, en la Figura 30 se muestran las partes del bisel.

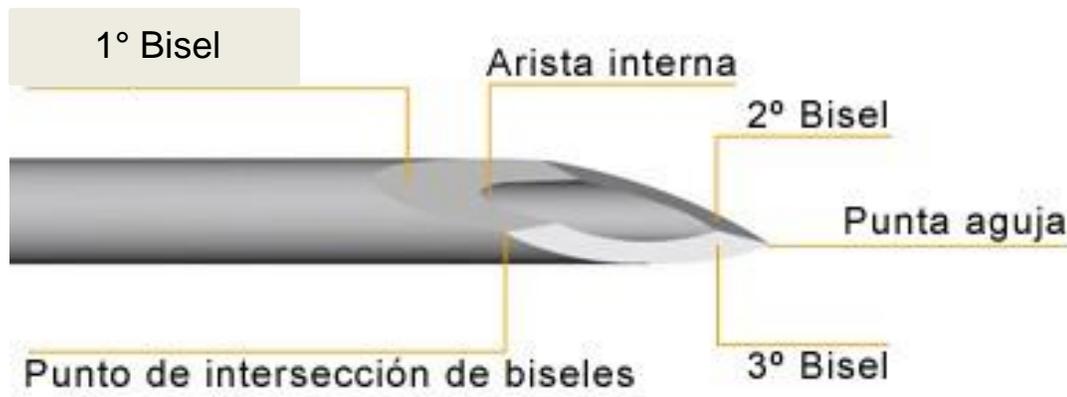


Figura 30. Partes del bisel.

Foto editada de BD Medical. www.bd.com. ⁽⁵⁶⁾

En las prácticas de las asignaturas de fisiología I, toxicología, inmunología, alimentos, farmacología I y II, que se imparten en la Facultad de Química de la UNAM, se utilizan los animales de laboratorio para que los alumnos y docentes conozcan y utilicen las distintas vías de administración.

Dependiendo de la vía que se use, dos personas pueden ser requeridas para completar el procedimiento.

7.1 Volúmenes para la administración de sustancias.

A continuación, en el Cuadro 4, se indica el volumen máximo de sustancia que podemos administrar por distintas vías, que son utilizadas en el ratón, rata y conejo.

Cuadro 4.

VOLUMEN MÁXIMO ACEPTADO PARA LAS VÍAS DE ADMINISTRACIÓN.

Especie	Subcutánea	Intramuscular	Intravenosa	Intraperitoneal	Oral
Ratón 20 g	0.5ml/sitio	0.05ml/sitio	0.2ml	1-2ml	0.4ml
Rata 250 g	1-2ml/sitio	0.1ml/sitio	1ml	2-4ml	5ml
Conejo 2 kg	1-3ml/sitio	0.25ml/sitio	4ml	10-15ml	10ml

Tabla editada del libro “Handbook of laboratory animal management and welfare”, 2013. ⁽¹⁰⁾

7.2 Vía subcutánea.

7.2.1 Ratón.

Material: Aguja calibre 27. Jeringa de 1 ml.

Para la administración por vía subcutánea se debe de sujetar al ratón con una mano y con la otra se deberá administrar; se prefieren los sitios en que abunde tejido conjuntivo como el dorso a nivel del cuello o los flancos.

MÉTODO 1

Con la mano que se sujeta el ratón, se debe de jalar la piel; la aguja se inserta con los filos del bisel hacia arriba en la piel paralela a la columna vertebral, como se ve en la Figura 31.

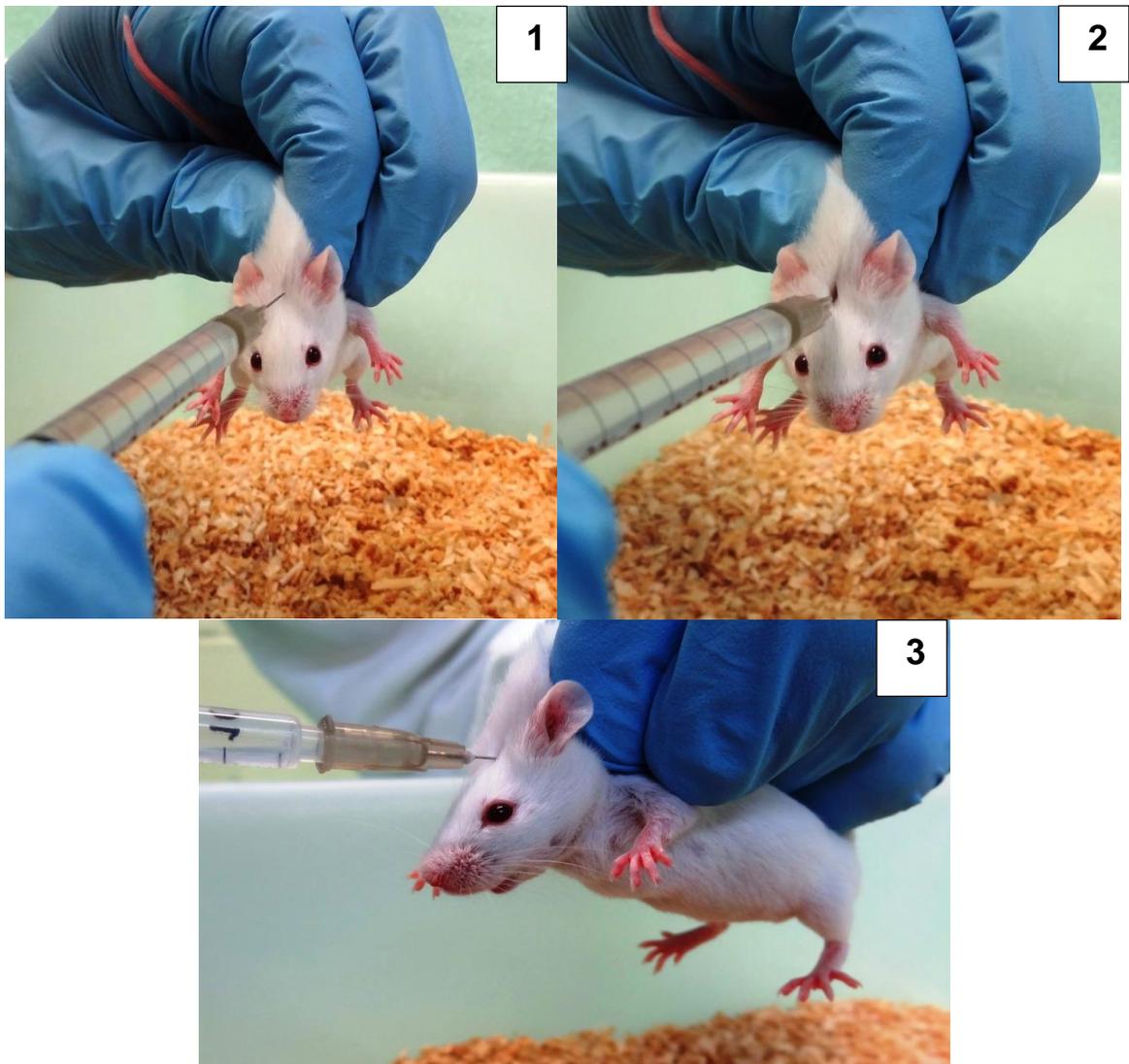


Figura 31. Administración vía subcutánea en ratón.

Fotos tomadas en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

MÉTODO 2.

Otro sitio donde se puede aplicar la vía subcutánea en el ratón, es inyectar de lado lateral, como se ve en la Figura 32.

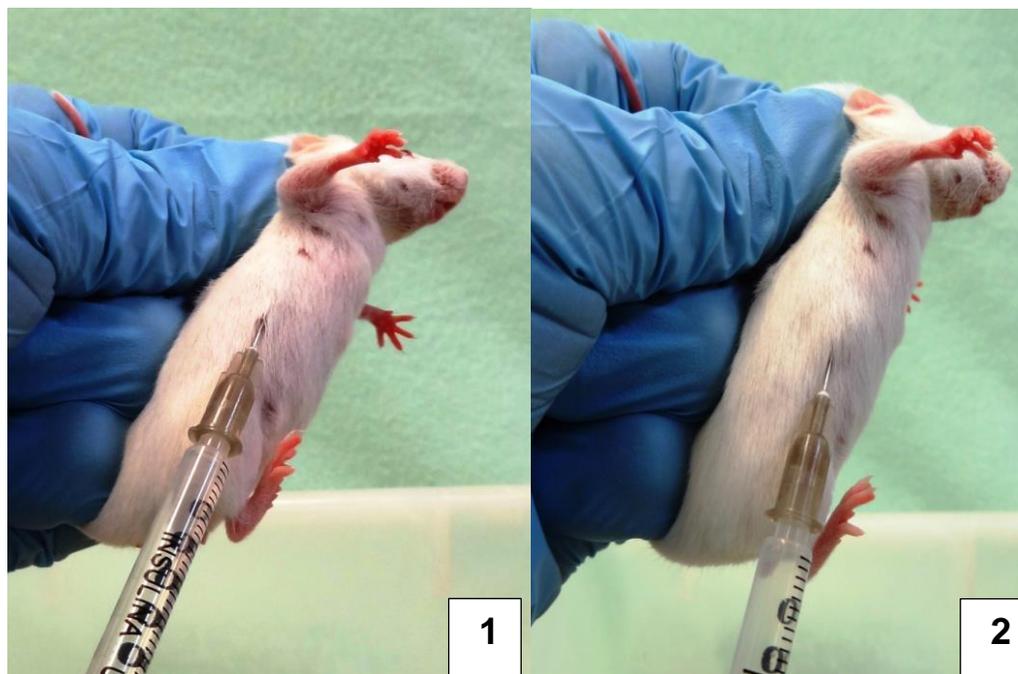


Figura 32. Administración vía subcutánea en región lateral del ratón.

Fotos tomadas en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

Lo ideal es que siempre se realice la administración por dos personas, una sujeta y la otra inyecta; esto para evitar lesiones y por protección del personal. ⁽⁵⁵⁾

7.2.2 Rata.

Material: Aguja calibre 27. Jeringa de 1 ml.

MÉTODO 1.

Para la administración por vía subcutánea una persona debe de sujetar a la rata y otra persona deberá jalar la piel para administrar; todo el animal está cubierto por piel la cual es muy laxa, lo que permite jalar firme una porción de la misma y crear

el triángulo perfecto para inyectar por esta vía. La aguja siempre debe de ingresar paralelo al cuerpo del animal como se ve en la Figura 33.

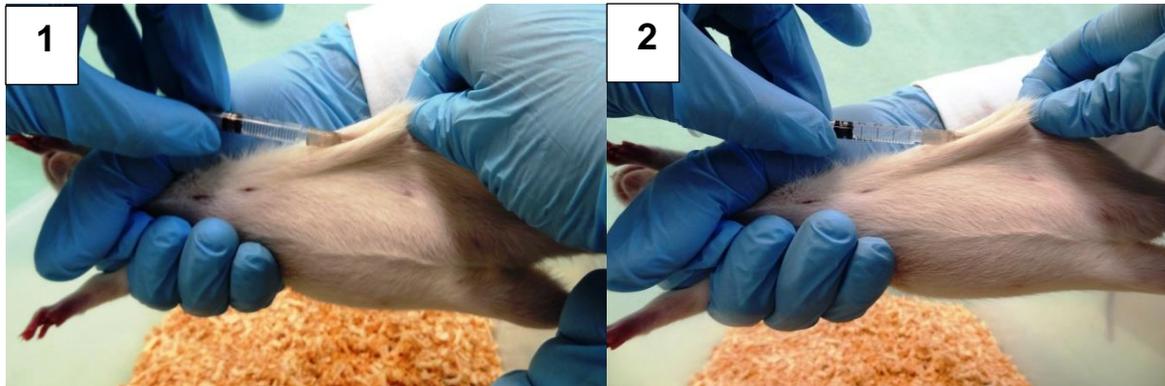


Figura 33. Vía de administración subcutánea en rata. Fotos tomadas en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

La sustancia inyectada en el espacio subcutáneo deberá administrarse a una velocidad lenta. No importa si la aguja ingresa en una dirección caudal o hacia craneal como se ve en la Figura 34.

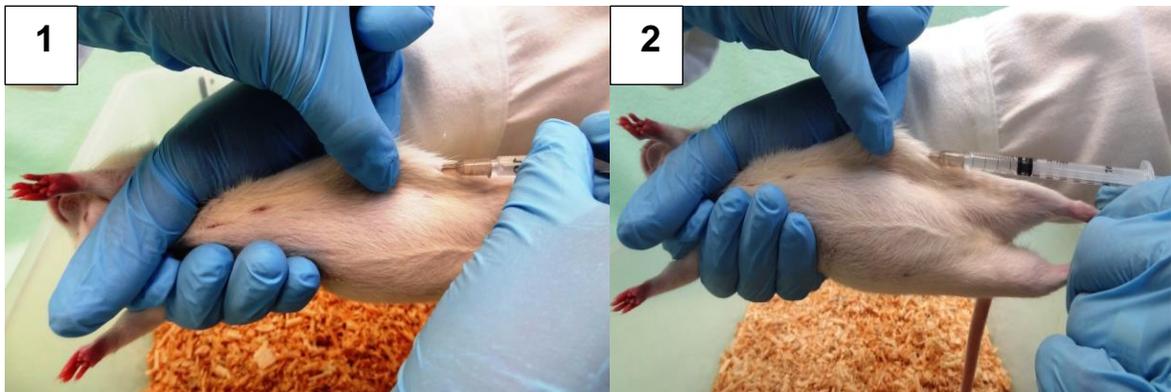


Figura 34. Vía de administración subcutánea en la región lateral de la rata. Fotos tomadas en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

7.2.3 Conejos.

Material: Aguja calibre 20 - 21. Jeringa de 3 ml.

Para realizar esta vía de administración, se debe de colocar al conejo sobre una mesa, se recomienda que esta técnica se realice con dos personas una que sujeta al conejo y otra para administrar; esto para tener más seguridad al realizar esta vía de administración.

Hay varias formas para sujetar al conejo, lo importante es que no se lesione al conejo y que no sea lastimado el sujetador.

MÉTODO 1.

Consiste en colocar al conejo sobre una superficie plana; en seguida se pone una mano sobre la cabeza del conejo colocando juntos los dedos índice y medio sobre la cabeza y los demás dedos se colocan por detrás de las orejas, esto nos permite sujetar la cabeza y poder ejercer presión hacia abajo, para evitar que el conejo se mueva; la otra mano se debe de colocar sobre el dorso del conejo; al final los brazos del sujetador quedaran entre cruzados como se ve en la Figura 35.



Figura 35. Sujeción del conejo.

Foto tomada en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

MÉTODO 2.

Poner una mano en la cabeza del conejo tapando su visión y la otra mano se pone en la región pélvica empujando hacia adelante como se muestra en la Figura 36; esto impide que el conejo se mueva.



Figura 36. Sujeción de la cabeza y región pélvica del conejo.

Foto tomada en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

MÉTODO 3.

Esta sujeción consiste en colocar una mano en la cabeza del conejo, tapando ojos y la otra mano poniéndola encima del tórax como se ve en la Figura 37, dejando libre la región lumbar y pélvica, que será la zona correcta para la administración subcutánea.



Figura 37. Sujeción del conejo por la cabeza y tórax.

Foto tomada en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

Para administrar por vía subcutánea se levanta la piel del flanco izquierdo o derecho de la región pélvica del animal introduciendo la aguja paralela a su cuerpo como se ve en la Figura 38.

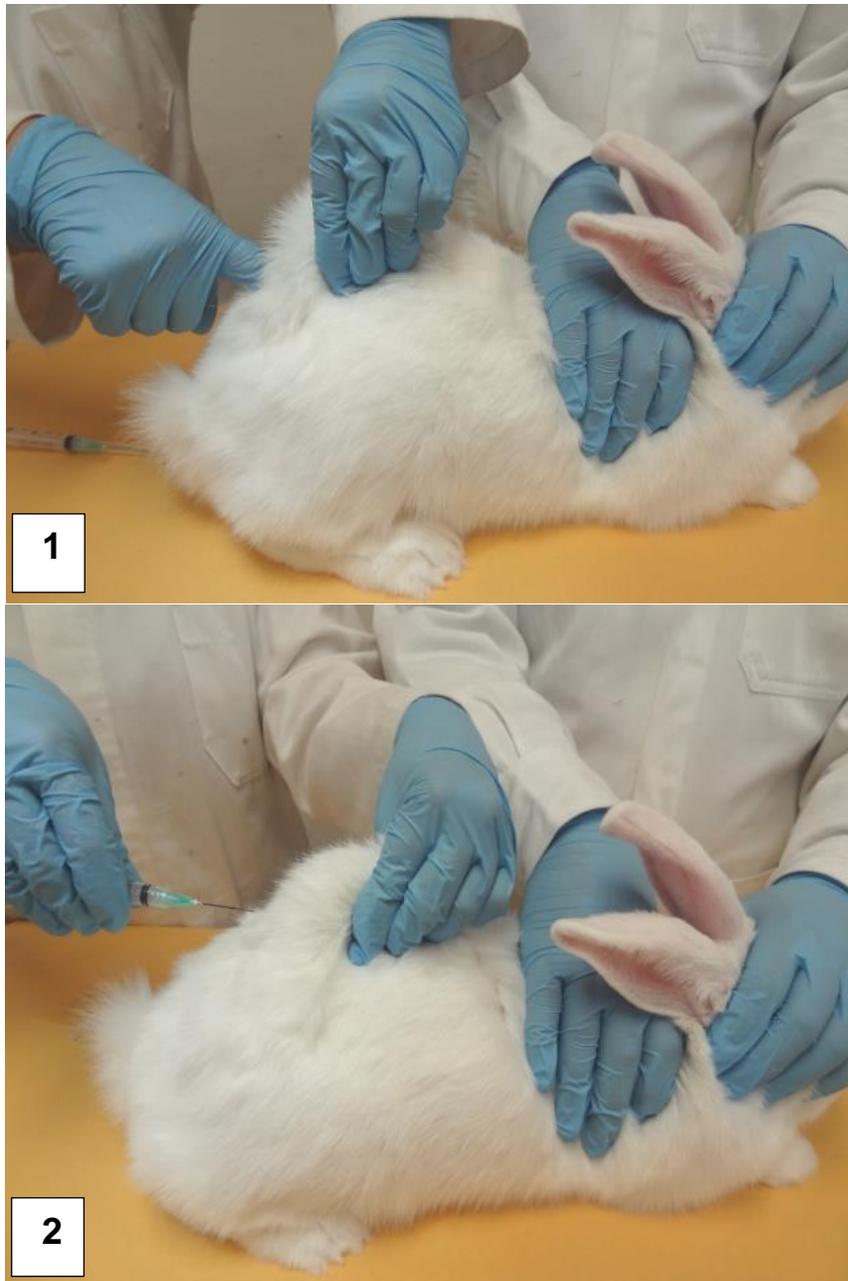


Figura 38. Vía de administración subcutánea en conejos. Fotos tomadas en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

7.3 Vía intramuscular.

7.3.1 Ratón y rata.

Material: Aguja calibre 27. Jeringa de 1 ml.

Para la administración vía intramuscular se recomienda que sean dos personas, una debe de sujetar al animal, la otra deberá sostener, jalar el miembro posterior y administrar.

MÉTODO 1

La administración se realiza en la región lateral externa del muslo, en la Figura 39 se muestra la localización del muslo y otras estructuras anatómicas del miembro posterior del ratón como el nervio ciático.

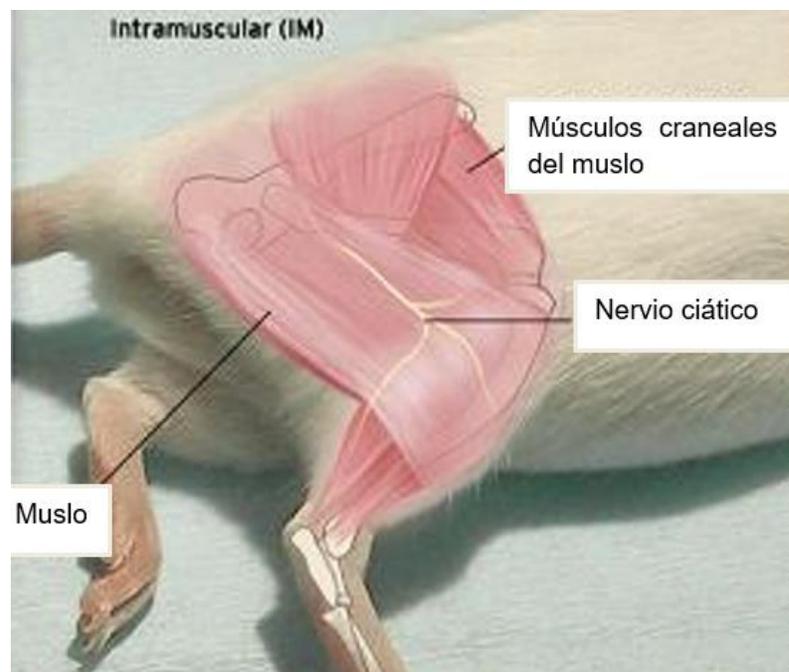


Figura 39. Músculos del ratón. Foto editada de www.theodora.com ⁽⁵⁷⁾

Es extremadamente importante que al inyectar se eviten los vasos sanguíneos y los nervios. El nervio ciático, por ejemplo, que se localiza a lo largo de la cara posterior del fémur, porque, si se inyectan sustancias o volúmenes excesivos cerca de este nervio, puede dañarse permanentemente el miembro posterior.

A continuación, en la Figura 40 se ilustra el procedimiento para la administración en el ratón.

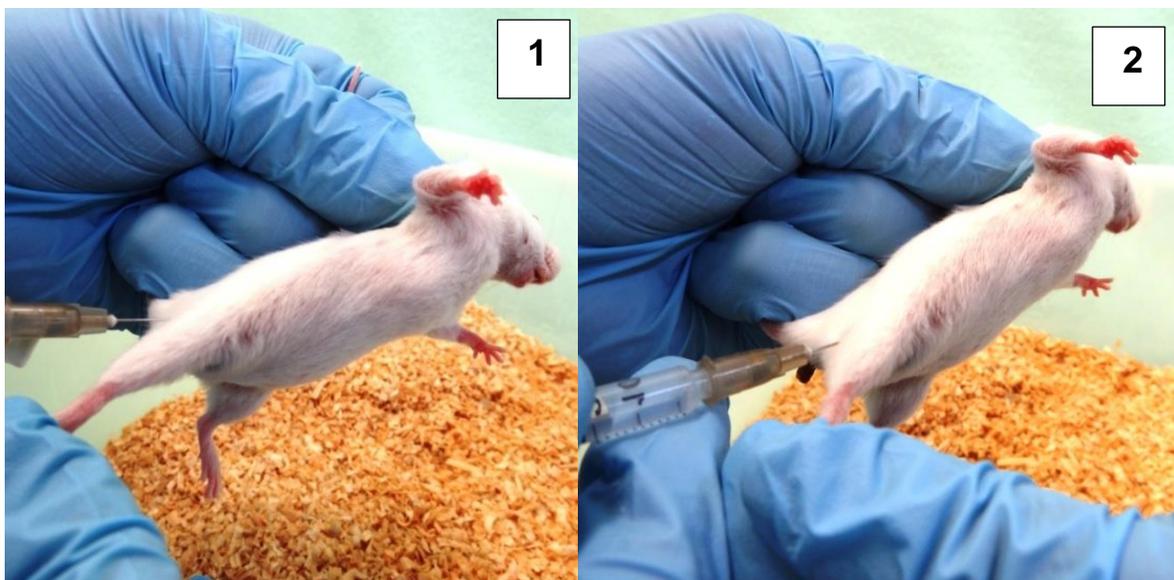


Figura 40. Sujeción y administración intramuscular en ratón. Fotos tomadas en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

En la Figura 41 se muestra otro ángulo de la vía de administración intramuscular en el ratón.



Figura 41. Vía de administración intramuscular en ratón. Foto tomada en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

Se debe introducir la aguja en un ángulo recto hacia lo más profundo del músculo. La administración debe ser lenta, constante y efectiva. En la Figura 42 se muestran los músculos superficiales en la rata.

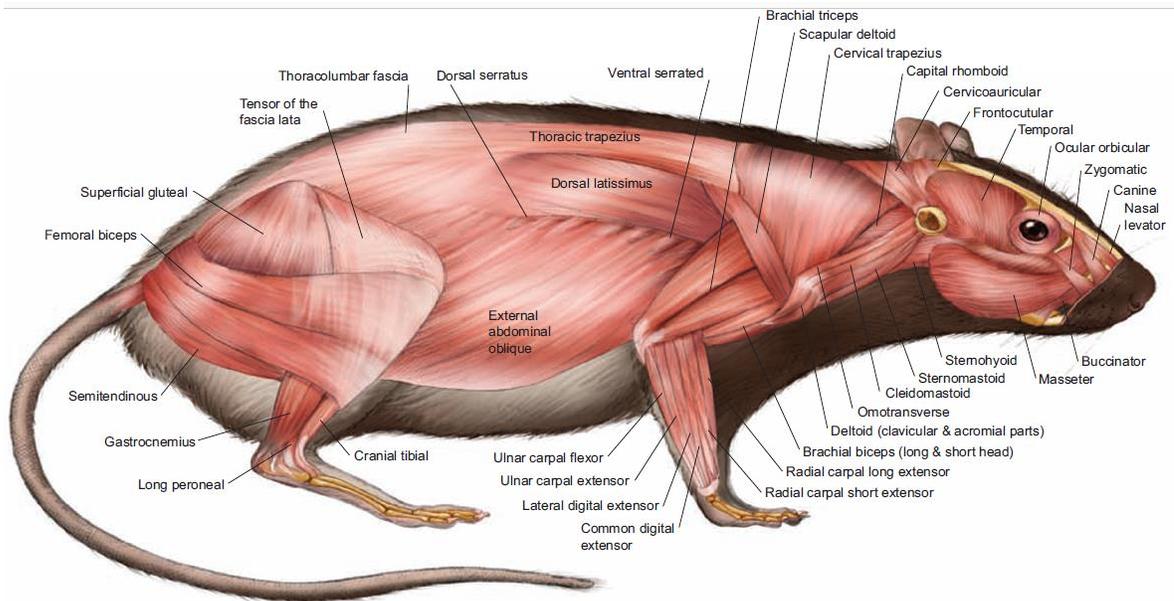


Figura 42. Nombre de los músculos de la rata.

Imagen del libro “Color atlas of small animal anatomy” (44)

Para la administración en ratas, se utiliza la misma técnica que en los ratones. En la Figura 43 se ejemplifica la administración por vía intramuscular.

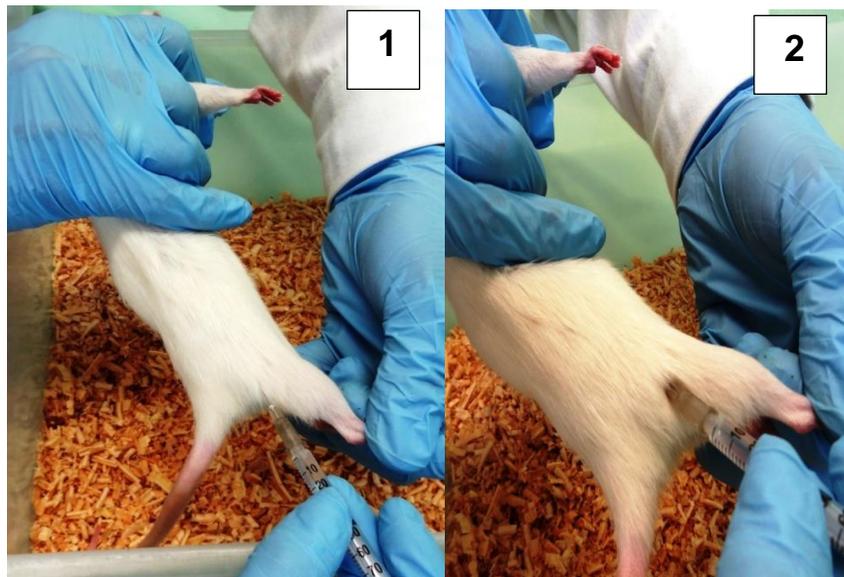


Figura 43. Sujeción y administración intramuscular en rata. Fotos tomadas en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

7.3.2 Conejos.

Material: Aguja calibre 20 - 21. Jeringa de 3 ml.

Para la administración intramuscular en conejos se prefiere inyectar en los músculos craneales del abductor, bíceps femoral y semitendinoso; en la Figura 44 se ilustra los músculos superficiales del conejo.

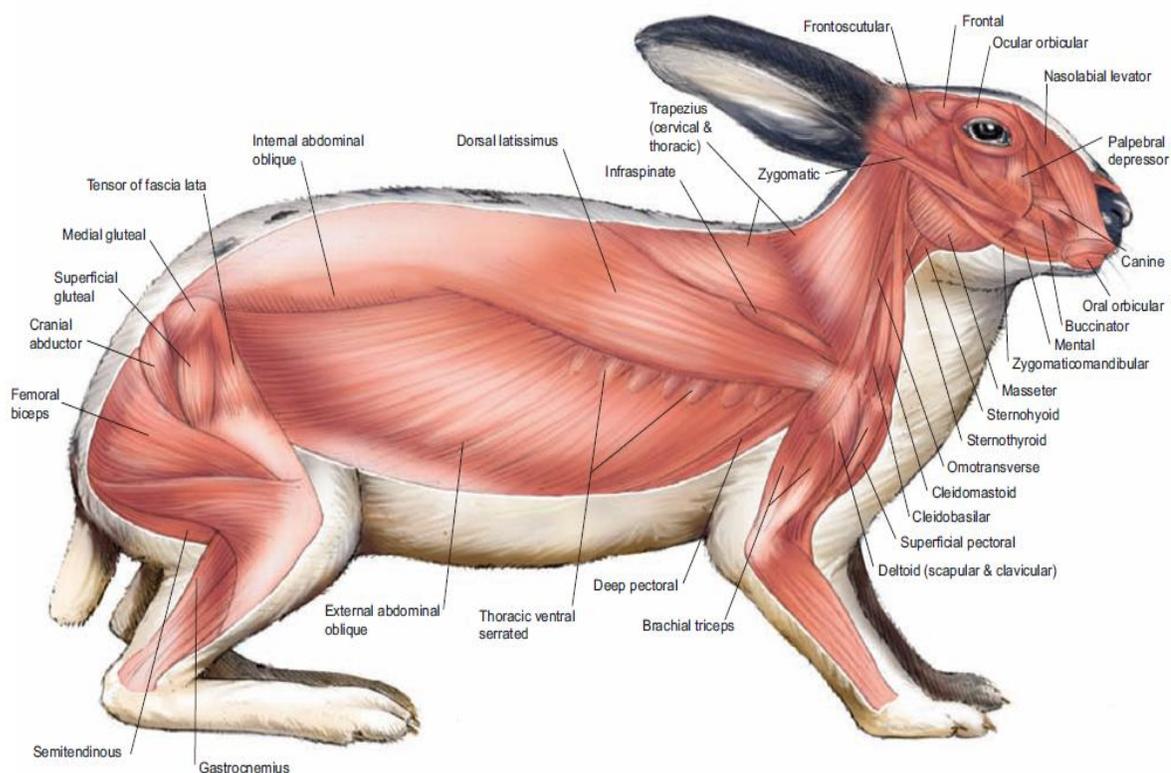


Figura 44. Músculos superficiales del conejo.

Imagen del libro “Color atlas of small animal anatomy” (44)

Para realizar esta vía de administración, se debe de colocar al conejo sobre una mesa, esta técnica se realiza con dos personas una que sujeta al conejo y otra que realice la administración.

MÉTODO 1.

Una persona debe de sujetar al conejo de tal manera que queden firmes los dos miembros posteriores para que se localicen los músculos y se administre en la cara externa de los muslos, como se ve en la Figura 45.

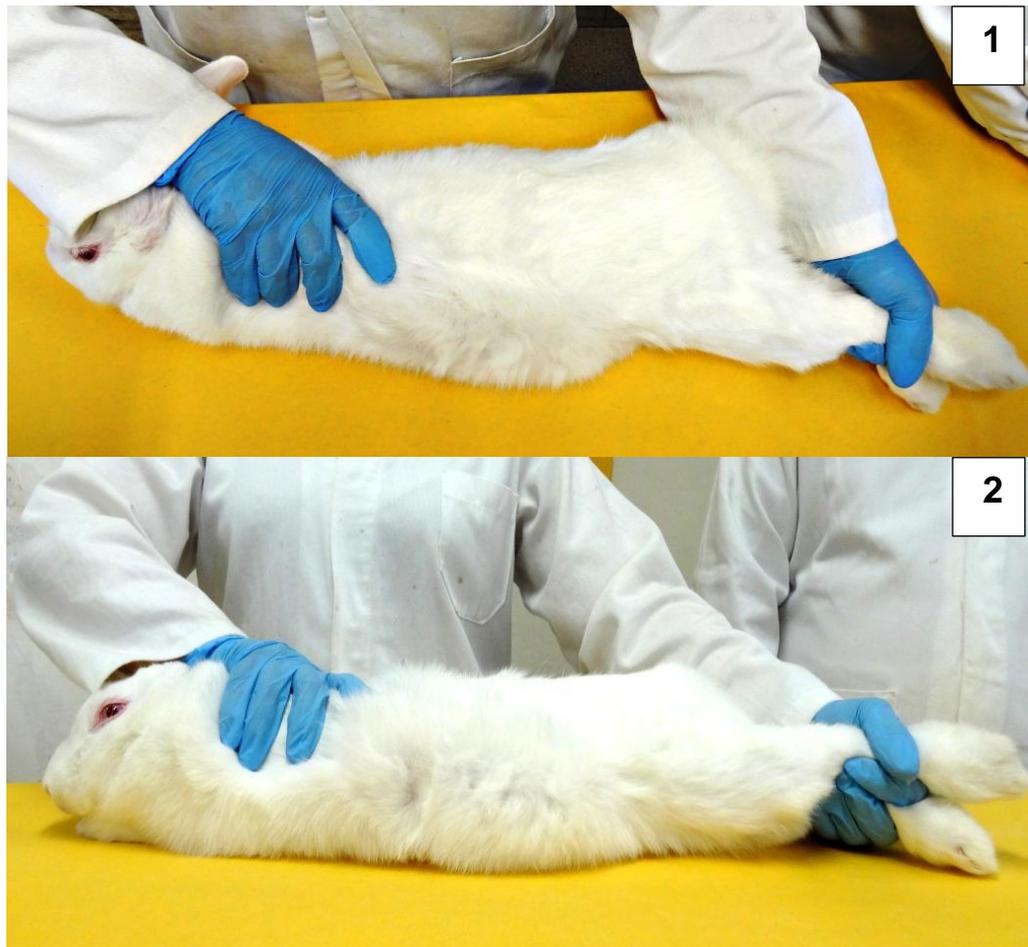


Figura 45. Sujeción del conejo. Fotos tomadas en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

MÉTODO 2.

La sujeción del conejo será por dos personas; la persona que sujeta los miembros posteriores será quien inyectará. La administración debe ser en la región externa de la pierna localizando los músculos abductores, como se ve en la Figura 46, la inclinación de la aguja siempre debe de ser en un ángulo de aproximadamente 30 a 40 grados como se ve en la Figura 47.



Figura 46. Sujeción y localización de los músculos del conejo para la vía de administración intramuscular. Foto tomada en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

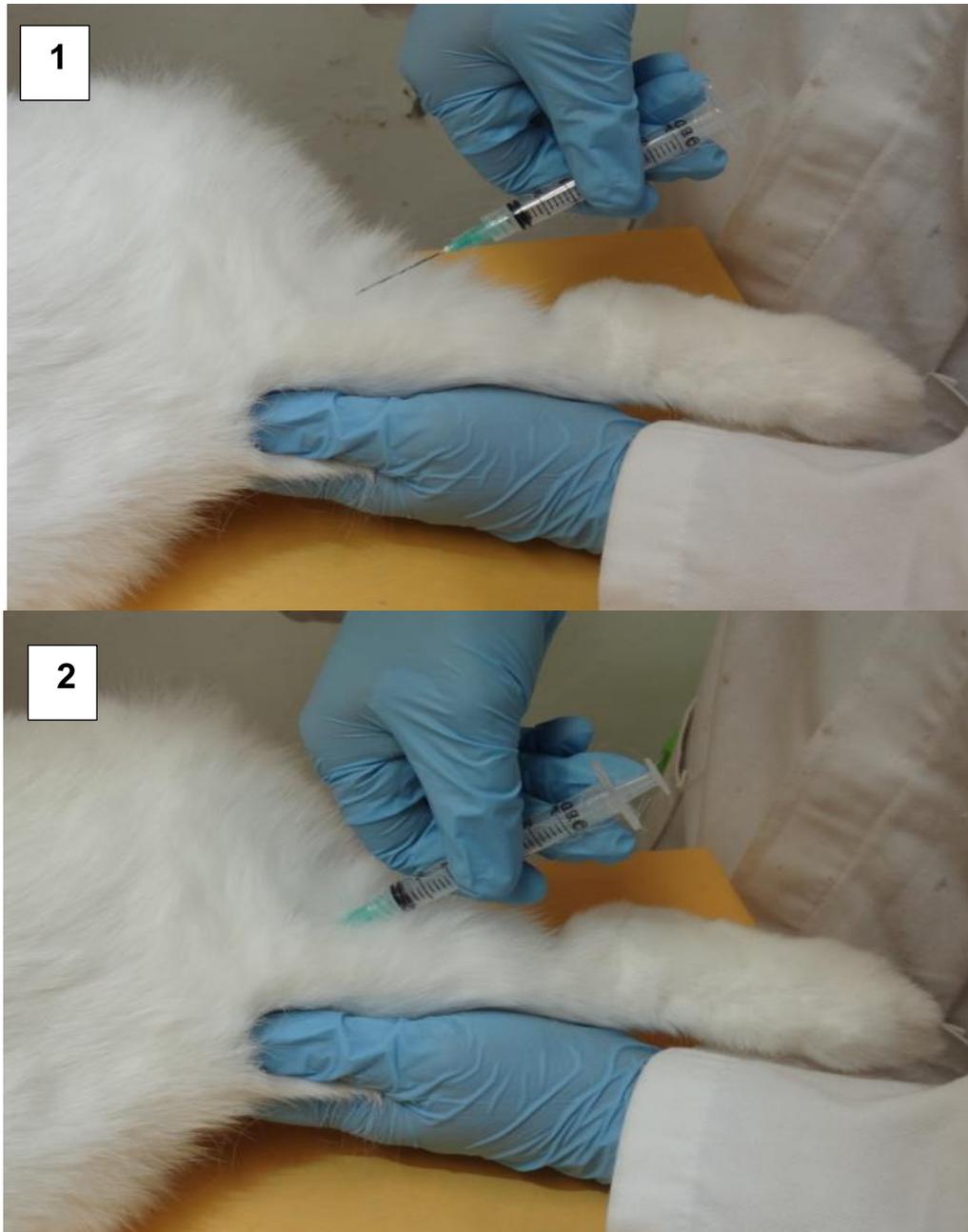


Figura 47. Administración intramuscular en conejos.

Fotos tomadas en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

Para los alumnos o docentes que están aprendiendo a inyectar, se recomienda la opción de cortar el tapón de la aguja, a un largo que permita reducir la posibilidad de lesión al animal como se ve en la Figura 48.



Figura 48. Corte del tapón de la aguja hipodérmica. Foto tomada en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

7.4 Vía intravenosa.

A continuación en el Cuadro 5, se muestra una tabla tomada de la NOM- 062-ZOO-1999 ⁽¹⁾, donde se muestran las vías permitidas para la administración intravenosa.

Cuadro 5.

VÍAS PERMITIDAS PARA LA ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA.

Animal	Vena auricular	Vena caudal	*Vena peneana	Vena safena	*Vena sublingual	*Vena yugular
Rata	-	+	+	+	+	+
Ratón	-	+	-	-	-	-
Conejo	+	-	-	-	-	-

* Previa anestesia o sedación

+Permitido

- No permitido

7.4.1 Vena caudal en ratón y rata.

Material: Aguja calibre 27, Jeringa de 1 ml, torunda con alcohol, contenedor.

En ratones y ratas, la administración intravenosa generalmente es en las venas laterales de la cola. Para la inyección el animal debe ser sujetado por un asistente o colocado en un dispositivo de restricción, como los contenedores que se ven en la Figura 49.



Figura 49. Contenedores para ratón y rata. Foto tomada en Bioterio

Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

MÉTODO 1.

La vía de administración por vena caudal se puede realizar en ratas y ratones, el animal debe ser inmovilizado por medio de un contenedor específico de especie. Este sistema permite una adecuada exposición de la cola que facilita el procedimiento. Antes de la administración se debe de pasar una torunda con alcohol

al 70% para dilatar la vena; cuando se va a realizar esta técnica por primera vez, se recomienda iniciar la administración de la parte distal de la cola, por si se llega a romper la vena, tengamos disponibles más sitios de inyección hacia la parte proximal de la cola. Se debe ingresar la aguja paralela al vaso sanguíneo, con el filo del bisel hacia arriba, asegúrese de haber ingresado en la vena, esto se realiza aspirando antes de administrar la sustancia, ver Figura 50.

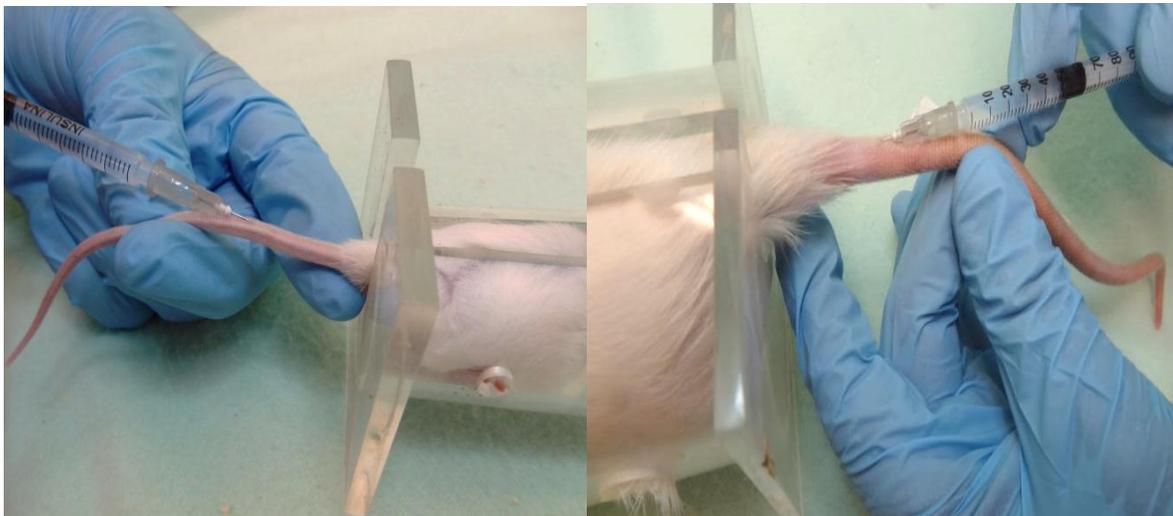


Figura 50. Vía de administración intravenosa en ratón y rata. Fotos tomadas en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

Al terminar la administración, se retira la aguja y con una torunda de algodón se hace presión para la hemostasia.

7.4.2 Vena marginal en conejo.

Material: Aguja calibre 27, 29; Jeringa de 1 - 3 ml, torunda con alcohol.

MÉTODO 1.

Se debe localizar en la oreja del conejo la vena marginal, la cual está a la orilla de la cara externa del pabellón auricular como se ve en la Figura 51; es importante dilatar dicha vena con una torunda impregnada con alcohol para tener un diámetro capilar adecuado para introducir la aguja.

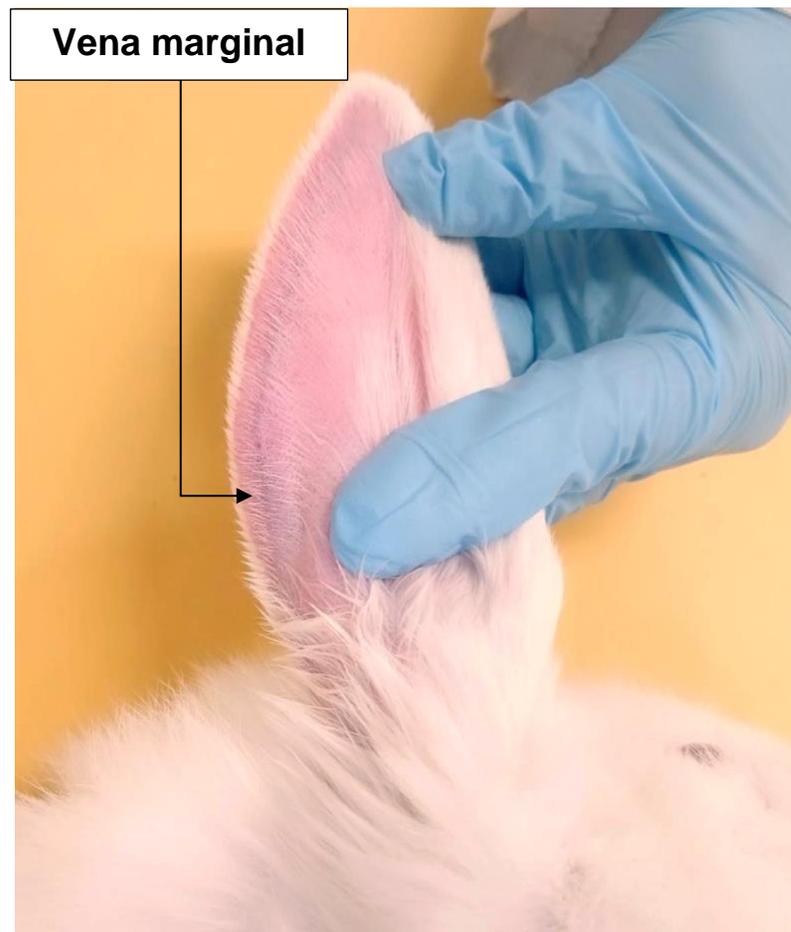


Figura 51. Vena marginal en conejos.

Foto tomada en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

Una persona sujeta firmemente al conejo y la otra sujeta la oreja para que quede rígida y proceda a la introducción de la aguja en la luz de la vena, como se ve en la Figura 52.



Figura 52. Administración por vena marginal en el conejo.

Foto tomada en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

Para ingresar a la vena, se debe de introducir siempre la aguja hipodérmica con los filos de bisel hacia arriba, como se muestra en la Figura 53.



Figura 53. Ingreso de la aguja a vena marginal. Foto tomada en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

Una vez terminada la administración, se debe extraer la aguja suavemente de la misma manera que la introdujo, inmediatamente aplicar una torunda de algodón para hacer presión suave hasta que deje de sangrar.

7.5 Vía intraperitoneal.

7.5.1 Ratón y rata.

Material: Aguja calibre 27. Jeringa de 1 ml.

La vía intraperitoneal es una vía parenteral que consiste en introducir soluciones en la cavidad peritoneal; para lo cual la zona abdominal se divide en cuatro regiones, aplicando la inyección en los dos cuadrantes o regiones posteriores.

MÉTODO 1.

Esta vía se realiza con el apoyo de dos personas, así una sujeta y otra administra; la sujeción es con una mano y con la otra se inmovilizan los miembros posteriores del ratón o de la rata, se debe de inclinar al animal hacia craneal mostrando la parte ventral, esto para producir un desplazamiento de las vísceras hacia la parte craneal para evitar una peritonitis traumática.⁽⁵⁵⁾ La aguja se inserta en la piel en un ángulo de 35 a 40 grados, atravesando grasa, músculo y peritoneo para quedar dentro de la cavidad abdominal como se ve en la Figura 54.



Figura 54. Administración vía intraperitoneal en ratón y rata. Fotos tomadas en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

Los cuadrantes están demarcados por la línea media y una línea perpendicular que pasa a través del ombligo, como se muestra en la Figura 55.

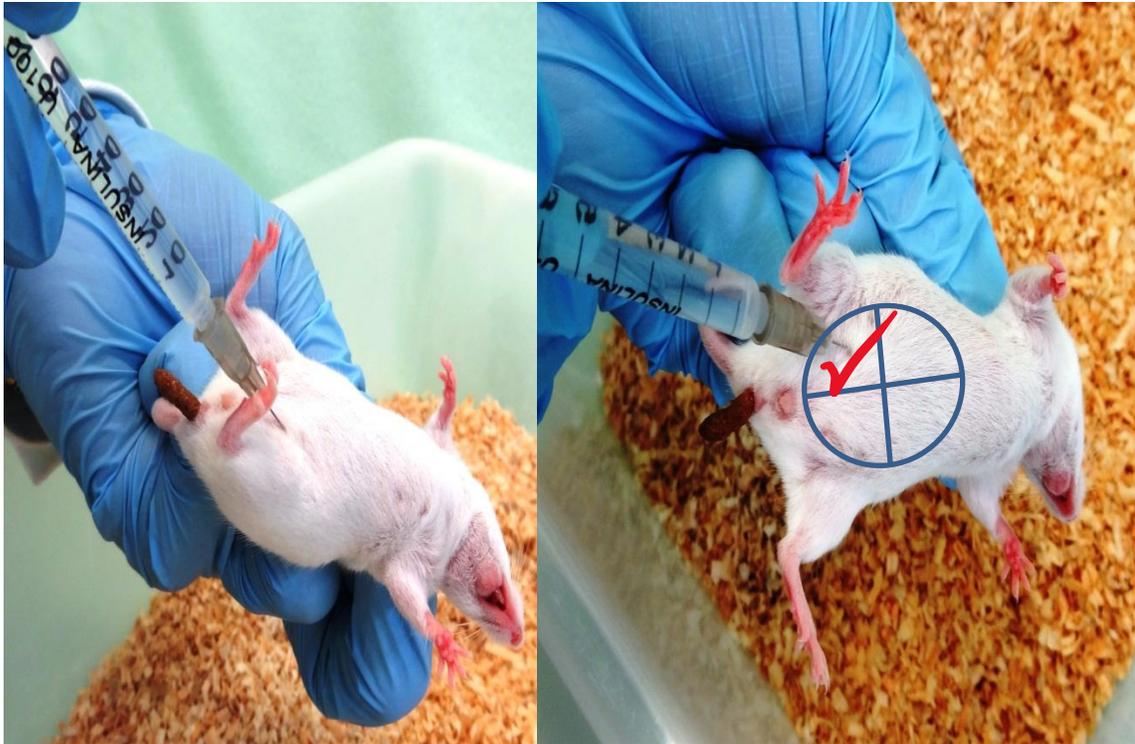


Figura 55. Administración vía intraperitoneal en el cuadrante posterior izquierda y posterior derecha del ratón. Fotos tomadas en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

En ratones, se pueden usar los dos cuadrantes posteriores, aunque en ratas para comenzar a practicar la técnica se prefiere administrar en el cuadrante posterior derecho, porque en el cuadrante posterior izquierdo se puede localizar el ciego ya que es un órgano de gran tamaño y en medio de la línea media no es recomendable inyectar porque se localiza la vejiga, pero al practicar esta vía de administración se tendrá la habilidad de inyectar en ambos cuadrantes posteriores como se ve en la Figura 56.



Figura 56. Administración vía intraperitoneal en la región posterior izquierda y posterior derecha de la rata. Fotos tomadas en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

La vía intraperitoneal es una muy buena opción para administrar grandes volúmenes y es una vía rápida de absorción, semejante a la vía intravenosa.

7.5.2 Conejos.

Material: Aguja calibre 20 - 21. Jeringa de 3 ml.

MÉTODO 1.

Para realizar la administración vía intraperitoneal en conejos se necesita de dos personas. En la Figura 57 se indica como sujetar al conejo, siempre se debe realizar este manejo encima de una mesa.



Figura 57. Sujeción del conejo para levantarlo. Foto tomada en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

Ya que se sujetó firme al conejo de la piel del dorso y de los miembros superiores, se debe levantar al conejo y retirar de la mesa, para poder acostarlo en una posición dorso ventral, como se ve en la Figura 58.



Figura 58. Posición dorso ventral del conejo para la administración intraperitoneal. Foto tomada en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

Se recomienda recargar al conejo sobre el brazo para darle soporte y se debe inclinar hacia craneal, para que por gravedad sus vísceras se desplacen hacia abajo y evitar perforar algún órgano de cavidad abdominal.

La persona que administra debe de dividir el abdomen del conejo en cuatro regiones y deberá administrar en los cuadrantes posteriores como se ve en la Figura 59, sobre todo en el cuadrante posterior del lado derecho del conejo para evitar perforar el ciego, ya que se localiza en el cuadrante posterior izquierdo; se debe de colocar la jeringa a un ángulo de 35 grados y se introduce toda la aguja a la cavidad abdominal para administrar.

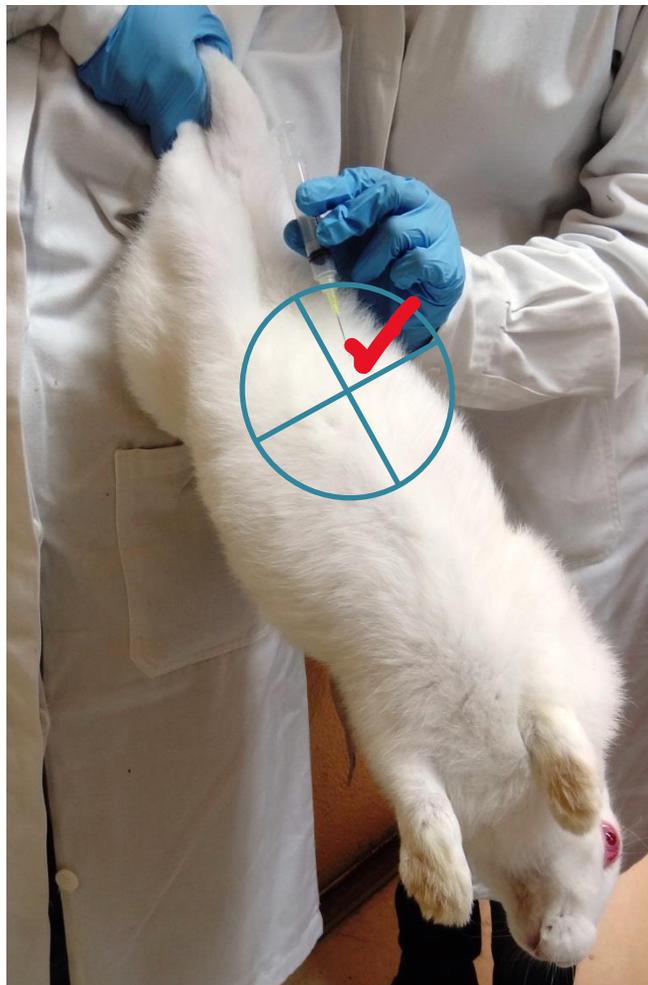


Figura 59. Administración vía intraperitoneal en conejo. Foto tomada en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

Al finalizar la administración se retira la jeringa y aguja en el mismo sentido al que se introdujo y debemos enderezar al conejo para volver a colocarlo con cuidado sobre la mesa.

7.6 Vía oral.

7.6.1 Ratón y rata.

Material: Sonda esofágica de acero inoxidable curva o recta. Reutilizable para ratón y rata. Jeringa de 1mL.

MÉTODO 1.

El animal debe estar sujetado firmemente en una forma recta, como se ve en la Figura 60.



Figura 60. Sujeción de ratón y rata para la administración vía oral. Fotos tomadas en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

La ubicación del estómago se encuentra debajo de las costillas de lado derecho en la cavidad abdominal, por lo tanto, se debe de medir con la sonda cuanto se va a introducir de la misma y después se hace el procedimiento, como se muestra en la Figura 61.

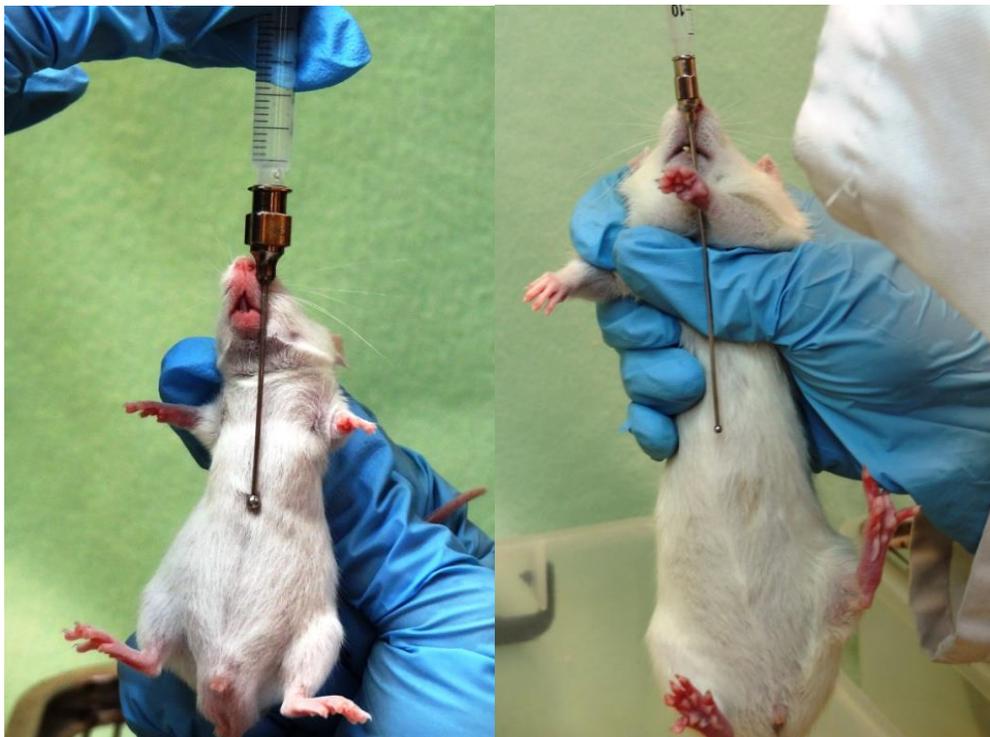


Figura 61. Medición de la sonda esofágica en ratón y rata. Fotos tomadas en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

A continuación, se debe de introducir la sonda por cavidad oral, localizando línea media y empujar en caso necesario la cabeza hacia atrás con la sonda esofágica, introducir suave y observar que toda la sonda esofágica entre hasta llegar al estómago, como se ve en la Figura 62 y Figura 63.

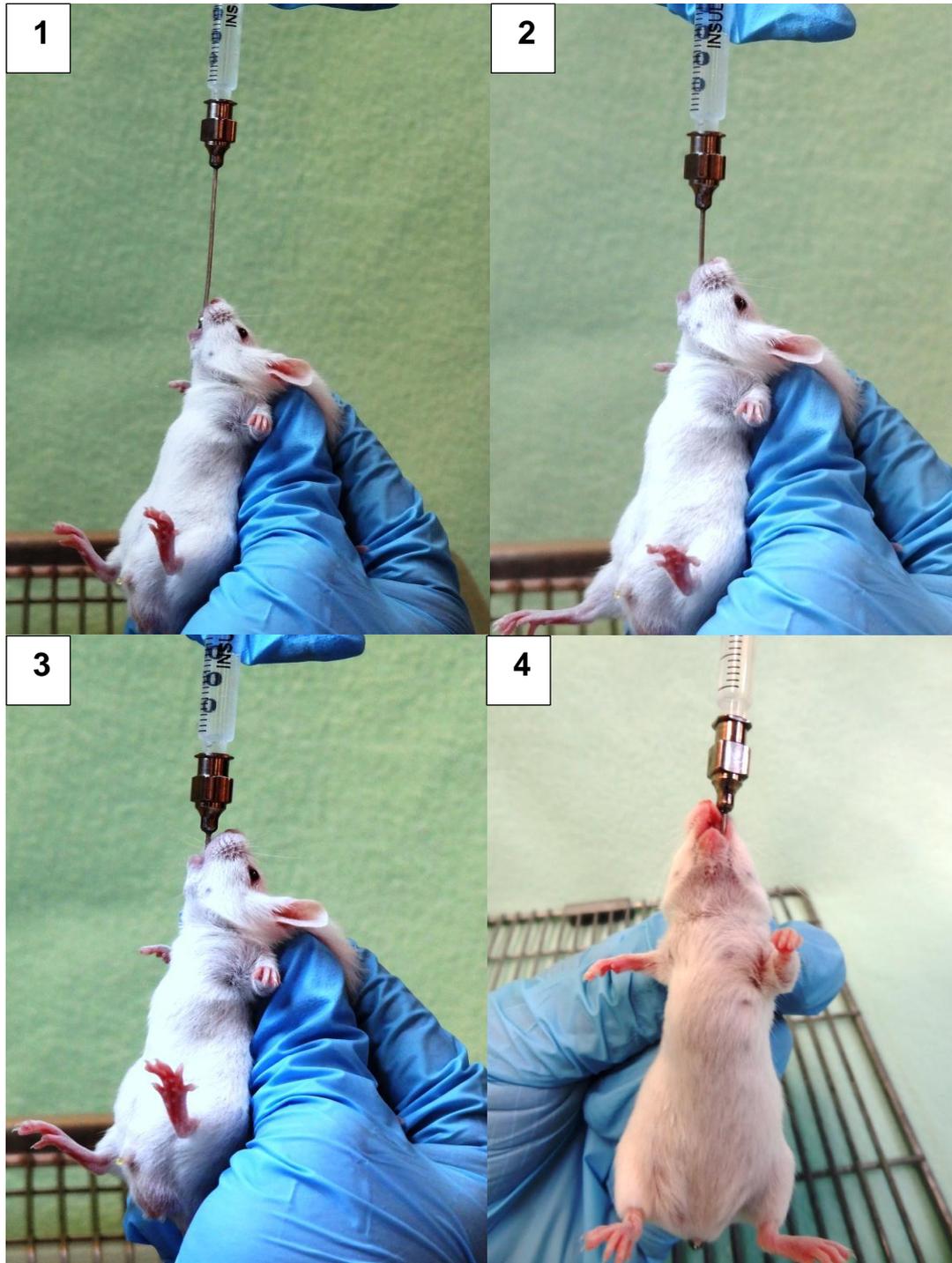
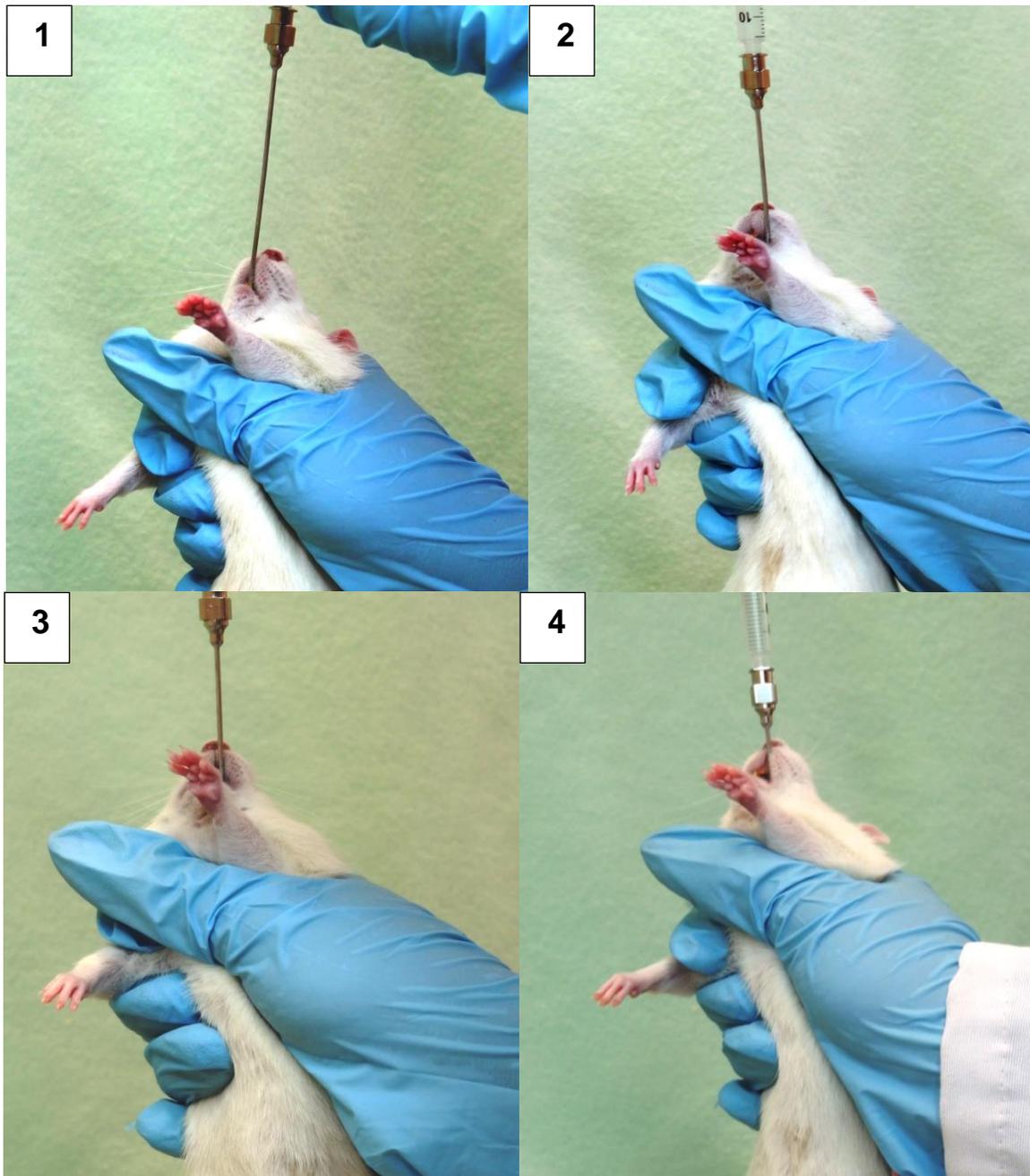


Figura 62. Administración vía oral en ratón. Fotos tomadas en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.



**Figura 63. Administración vía oral en rata. Fotos tomadas en Bioterio
Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.**

Después de administrar, se extrae la sonda en un movimiento firme y continuo.

VIII. PROTOCOLOS ANESTÉSICOS.

Se define como anestesia la pérdida total de las sensaciones corporales de una parte orgánica o en su totalidad, inducida normalmente por un fármaco que deprime la actividad del tejido nervioso, ya sea localmente (periférico) o total (central).

Podemos distinguir:

Anestesia general: Ocasiona inconsciencia (hipnosis o sueño), analgesia, bloqueo de la actividad refleja y relajación muscular (inmovilidad). Dado que las drogas no cumplen con estos criterios por completo, se opta por el empleo de una anestesia mezclada que en combinación de diferentes fármacos se logra una anestesia con menor dosis y menos efectos adversos.

Anestesia regional: Se limita a un área anatómica, generalmente una extremidad o parte de ella.

Anestesia local: Restringida a una zona reducida ⁽¹⁵⁾

Siempre se deberá contemplar el cuidado pre, inter y posoperatorio.

Antes de realizar cualquier procedimiento experimental se debe valorar diferentes parámetros como:

1. Si el animal estará consciente o inconsciente.
2. Protocolo de anestesia.
3. Preparación de ayuno (\leq de 4 horas).

4. Método de inmovilización.
5. Sensibilidad del tejido.
6. Riesgo para el órgano.
7. Riesgo de mortalidad.
8. Dolor.

A continuación, en el Cuadro 6 se mencionan protocolos anestésicos en ratones.

Cuadro 6.

ANESTESIA EN RATONES.

FÁRMACO	DOSIS	VÍA	DURACIÓN
BARBITÚRICOS			
Pentobarbital	50 mg/kg	Intraperitoneal	20 – 40min
AGENTES DISOCIATIVOS Y COMBINACIONES			
Ketamina + acepromacina	100 mg/kg + 5 mg/kg	Intraperitoneal	20 – 30 min
Ketamina + medetomidina	50 – 75 mg/kg + 1 – 10 mg/kg	Intraperitoneal	20 – 30 min
Ketamina + xilacina + acepromacina	80 – 100 mg/kg + 5 - 10 mg/kg + 3 mg/kg	Intraperitoneal	20 – 30 min
NEUROLEPTOANESTESICOS			
Fentanilo-fluanisona + midazolam	0.4 ml/kg+ 10 ml/kg	Intraperitoneal	30 – 40 min
Fentanilo-fluanisona + diazepam	0.4 ml/kg+ 5 mg/kg	Intraperitoneal	30 – 40 min
Metomidato + Fentanilo	60 mg/kg+ 0.06 mg/kg	Subcutánea	20 – 30 min
OTROS AGENTES			
Propofol	12 – 26 mg/kg	Intravenosa	5 – 10 min
*Tribromoetanol 2.5%	240 mg/kg	Intraperitoneal	15 – 45 min

Tabla modificada y traducida del libro “Laboratory Animal Medicine”, 2015. ⁽¹²⁾

*para poder utilizar el Tribromoetanol se debe tomar en cuenta que es necesario utilizar el fármaco recién preparado o con 5 días de antigüedad siempre cuando se haya almacenado correctamente (4°C y en oscuridad). ⁽⁵⁸⁾

ANESTESIA INHALADA EN RATÓN:

El isoflurano es el anestésico más utilizado en animales de laboratorio, sin embargo, debido a su alta presión de vapor tiene que ser utilizado con un vaporizador. El Metoxiflurano es otra opción, pero es difícil de adquirir y es muy costoso, pero puede ser utilizado sin un vaporizador para anestesiarse ratones, solo hay que evitar el contacto directo. ⁽⁵⁸⁾ En el Cuadro 7 se menciona la dosis de los fármacos antes mencionados.

Cuadro 7.

ANESTESIA INHALADA EN RATONES

FÁRMACO	DOSIS
Isoflurano	1 – 4 % a efecto
Metoxiflurano	1 – 4 % a efecto

Tabla modificada y traducida del libro “Laboratory Animal Medicine”, 2015. ⁽¹²⁾

Las etapas de anestesia pueden ser muy difíciles de reconocer en ratas y ratones. La transición de una etapa a otra puede ser sutil y breve. En general, las reacciones del sistema neuromuscular se utilizan para determinar la etapa de la anestesia. En ratas es apropiado pellizcar su dedo del pie y medir su frecuencia respiratoria para evaluar el grado de anestesia.

En el Cuadro 8, se mencionan los protocolos anestésicos utilizados en ratas.

Cuadro 8.

ANESTESIA EN RATAS.

FÁRMACO	DOSIS	VÍA	DURACIÓN
BARBITÚRICOS			
Pentobarbital	30 - 60 mg/kg	Intraperitoneal	20 – 60 min
AGENTES DISOCIATIVOS Y COMBINACIONES			
Ketamina + acepromacina	75 mg/kg + 2.5 mg/kg	Intraperitoneal	20 – 30 min
Ketamina + medetomidina	60 – 75 mg/kg + 0.5 mg/kg	Intraperitoneal	20 – 30 min
Ketamina + xilacina	40 – 80 mg/kg + 5 - 10 mg/kg	Intraperitoneal	20 – 40 min
Ketamina + xilacina + acepromacina	40 – 50 mg/kg + 2.5 - 8 mg/kg + 0.75 – 4 mg/kg	Intraperitoneal	20 – 30 min
NEUROLEPTOANESTESICOS			
Fentanilo-fluanisona + midazolam	0.4 - 0.6 ml/kg + 2.7 ml/kg	Intraperitoneal	30 – 40 min
Fentanilo-fluanisona + Diacepam	0.4 – 0.6 ml/kg + 2.5 ml/kg	Intraperitoneal	20 – 40 min
OTROS AGENTES			
Propofol	7.5 - 10 mg/kg	Intravenosa	5 -10 min
Tribromoetanol 2.5%	300 mg/kg	Intraperitoneal	60 – 120 min
INHALADA			
Isoflorano	1 – 4 % a efecto	Inhalada	

Tabla modificada y traducida de “Laboratory Animal Medicine”, 2015. ⁽¹²⁾

Las ratas no vomitan lo que limita el riesgo de neumonía por aspiración, la dieta preoperatoria no tiene utilidad, solo puede causar hipoglucemia, isquemia cerebral por paro cardíaco o respiratorio.

Si las ratas deben ser ayunadas para la cirugía intestinal, no es necesario ayunar más de seis horas. ⁽⁵⁸⁾

ANESTESIA EN CONEJOS.

Los conejos presentan un riesgo anestésico mayor que otros animales de laboratorio. Los conejos se estresan fácilmente por la anestesia y tienen respuestas altamente variables a los agentes anestésicos. Además, los regímenes preanestésicos que incluyen atropina son a menudo ineficaces porque el 30% hasta el 40% de los conejos tienen una enzima sérica llamada atropina esterasa, que hidroliza la atropina. ⁽¹³⁾

En el Cuadro 9 se mencionan los anestésicos que se pueden utilizar en conejos.

Cuadro 9.

PREANESTÉSICOS Y ANESTÉSICOS USADOS EN CONEJOS.

FÁRMACO	DOSIS	VÍA	USO
Acepromacina	0.5 - 1 mg/kg	Intramuscular Subcutánea	Premedicación
Acepromacine + butorfanol	0.5 mg/kg + 0.5 mg/kg	Subcutánea Intramuscular	Sedación
Diacepam	1 – 2 mg/kg	Intravenosa Intramuscular	Sedación
Fentanilo/fluanisona	0.2 – 0.5 ml/kg	Intramuscular	Premedicación
Ketamina	30mg/kg	Intramuscular	Sedación
Ketamina + Xilacina	35 mg/kg + 5 mg/kg	Intramuscular	Anestesia
Medetomidina	0.1 – 0.5 mg/kg	Intramuscular	Premediación o sedación
Midazolam	0.5 – 2 mg/kg	Intravenosa Intramuscular Intraperitoneal	Sedación
Propofol	7.5 – 15 mg/kg	Intravenosa	Anestesia
Xilacina	3 – 5 mg/kg	Intramuscular Subcutánea	Sedación
INHALADA			
Isoflurano	1.5 – 5% a efecto	Inhalada	Anestesia

Tabla adaptada y traducida de Sirosis, “Laboratory animal and exotic pet medicine: principles and procedures” 2016. ⁽¹³⁾

IX. ANALGÉSICOS.

El uso apropiado de analgésicos durante o después de un procedimiento doloroso es parte integral del manejo postquirúrgico. ⁽⁵⁹⁾ En el Cuadro 10 se mencionan los analgésicos que se usan en ratón, rata y conejo.

Cuadro 10.

DOSIS Y VÍAS DE ADMINISTRACIÓN DE ANALGÉSICOS.

ANALGÉSICOS	RATÓN	RATA	CONEJO
Ácido Acetil Salicílico	120 - 300mg/kg; Vía oral c/4 hrs	100 – 150 mg/kg; Vía oral c/4 hrs	100 - 500 mg/kg Vía oral c/4 hrs
Buprenorfina	0.05 - 0.1 mg/kg; Subcutánea Intraperitoneal c/6-12 hrs.	0.01-0.05 mg/kg; Subcutánea Intraperitoneal c/8-12 hrs.	0.01-0.05 mg/kg; Subcutánea Intravenosa Intramuscular c/6-12 hrs.
Butorfanol	1 - 5 mg/kg; Subcutánea Intraperitoneal c/4 hrs.	1 - 2 mg/kg; Subcutánea Intraperitoneal c/4 hrs.	0.1 - 0.5 mg/ kg; Subcutánea Intravenosa c/4 hrs.
Carprofeno	2.5 - 5 mg/kg; Subcutánea Intraperitoneal Vía oral c/12 - 24 hrs.	5 mg/kg; Subcutánea Intraperitoneal c/24 hrs.	1.5 - 5 mg/kg; Subcutánea Intraperitoneal Intramuscular Vía oral c/24 hrs.
Codeína	10 – 20 mg/kg; Subcutánea c/6 hrs	25 - 60 mg/kg; Subcutánea c/4 hrs	

Flunixin meglumina	2.5 mg/kg; Subcutánea c/12-24 hrs.	2.5 mg/kg; Subcutánea c/12-24 hrs.	1.1 - 2 mg/kg; Intramuscular Subcutánea c/12 - 24 hrs
Ibuprofeno	7.5 mg/kg; Vía oral	15 mg/kg; Vía oral	10 – 20 mg/kg; Intravenosa c/4 hrs
Ketoprofeno	5 mg/kg; Subcutánea Vía oral c/12-24 hrs.	5 mg/kg; Subcutánea Intraperitoneal c/24 hrs.	1 - 3 mg/kg; Subcutánea Intramuscular Vía oral c/12-24 hrs.
Meloxicam	5 mg/kg; Subcutánea Intraperitoneal c/24hrs.	1 – 2 mg/kg; Subcutánea Intraperitoneal c/24hrs	0.2 – 0.6 mg/kg; Subcutánea Vía oral c/24hrs
Meperidina HCL (Petidina)	10 - 20mg/kg; Subcutánea Intramuscular c/2 – 3 hrs	10 - 20mg/kg; Subcutánea Intramuscular c/2 – 3 hrs	10 - 20mg/kg; subcutánea Intramuscular 5 – 10 mg/kg Subcutánea c/ 2 -3 hrs
Morfina	2.5 mg/kg, 5-10 mg/kg; Subcutánea Intraperitoneal c/2-4 hrs.	2 - 5 mg/kg, Subcutánea c/2-4 hrs.	2 - 5 mg/kg; Subcutánea Intramuscular c/2-4 hrs.

Piroxicam	3 mg/kg; Vía oral c/24 hrs	3 mg/kg; Vía oral c/24 hrs	0.2 mg/kg; Vía oral c/8 hrs
Tramadol	5 mg/kg; Intramuscular Intraperitoneal c/24hrs.	5 mg/kg; Intramuscular Intraperitoneal c/24hrs.	10 mg/kg; Vía oral c/24 hrs

Tabla adaptada y traducida de Sirois, “Laboratory animal and exotic pet medicine: principles and procedures” 2016. (13, 9)

Los antiinflamatorios no esteroideos AINEs son excelentes analgésicos, muy útiles cuando la acción antiinflamatoria no interfiere en los datos de la investigación. (60)

Otras medidas importantes postquirúrgicas.

1- Manejar aislamiento. Se debe tener un área de recuperación donde se mantenga un ambiente confortable, preferiblemente con nido y aporte extra de materiales que absorban la humedad.

2- Muy importante aplicar fuente de calor pues la temperatura se pierde en fase de recuperación; así que se deberá evitar la hipotermia e hipoglucemia. Se recomienda no usar lámparas, se debe dar calor por conducción, no por convección. Ejemplos: cojines térmicos, mantas, botellas de agua caliente envueltas en trapos para evitar quemaduras, envolver al animal en papel aluminio.

3- Evitar a toda costa las infecciones. Si no se está seguro de haber guardado correctamente los protocolos de asepsia quirúrgica, tratar con antibióticos de amplio espectro al menos 4 días.

Hay que recordar que la investigación biomédica debe ser multidisciplinaria, involucrar a los diferentes profesionales de acuerdo con el área en la que se especialicen, si no se tiene dominio de algún método o técnica a utilizar se recomienda pedir asesoramiento de un profesional calificado y certificado. ⁽⁶⁰⁾

X. VÍAS DE TOMA DE MUESTRAS SANGUÍNEAS.

El punto de partida para la investigación de un animal en el laboratorio es la toma de muestras. Estas pueden tomarse de los animales o de su entorno con diferentes fines para proporcionar resultados estadísticos válidos, las muestras recogidas deberán ser idóneas para el fin que se persigue y adecuadas en cuanto al número y cantidad.

Las muestras deben tomarse cuidadosamente con el fin de evitar cualquier lesión o estrés excesivo para el animal o cualquier peligro para el operador; las muestras se tomarán de forma aséptica y se debe tener cuidado para evitar la contaminación cruzada. ⁽⁶¹⁾

La sangre se extrae de los animales para una gran variedad de propósitos. Los investigadores deben considerar que el proceso puede ser estresante para un animal, sencillamente por el manejo, el tipo de anestesia o la incomodidad que se asocia a una determinada técnica. ⁽⁶²⁾

La toma de muestra

Una correcta sujeción, es la que permite tomar una muestra adecuada al primer intento sin causar pánico innecesario en el animal, en cuyo caso, otros animales

próximos pueden alarmarse, lo que llevaría a complicaciones tanto científicas como de bienestar. ⁽⁶²⁾

El volumen de sangre extraída y la frecuencia de los muestreos se basarán en el propósito del procedimiento científico y el volumen total de sangre del animal.

Existen cuatro efectos adversos en la toma de muestra que son: hemorragias, hematomas, flebitis y estrés causados por una manipulación inadecuada. ⁽⁵⁵⁾

La fórmula general para el cálculo del volumen máximo que se puede obtener es:

Peso del animal (g) X 0.06 = volumen total de sangre (ml) X 0.10 = 10% máximo de muestra permisible para que el animal quede vivo.

En seguida en el Cuadro 11, se indica el porcentaje de volumen circulatorio de sangre que se puede obtener y el tiempo de recuperación que se les debe de dar a los animales.

Cuadro 11.

VOLUMEN CIRCULATORIO DE SANGRE Y PERIODO DE RECUPERACIÓN.

Muestreo simple	
% de volumen de sangre circulante extraída	Periodo de recuperación aproximado
7.5%	1 semanas
10%	2 semanas
15%	4 semanas

Tabla editada de Diehl: **A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes, 2001.** ⁽⁶³⁾

En el Cuadro 12 se indica el volumen total de sangre y máximo volumen de sangre que puede extraerse sin provocar disturbios en la fisiología normal del animal.

Cuadro 12.

VOLUMEN TOTAL DE SANGRE Y MÁXIMO VOLUMEN DE SANGRE QUE PUEDE EXTRAERSE.

ESPECIE Y PESO	VOLUMEN TOTAL DE SANGRE	7.5%	10% (Máximo. Muestra única)
RATÓN 25 g	1.8 ml	0.14 ml	0.18 ml
RATA 250 g	16 ml	1.2 ml	1.6 ml
CONEJO 3 kg	168 ml	12.6 ml	16.8 ml

Tabla traducida de: Institutional Animal Care and Use Committee Standard Operating Procedure, 2016. ⁽⁶⁴⁾

Hasta un 10% del volumen de sangre circulante puede ser extraída en una sola ocasión de animales normalmente sanos y bien nutridos con efectos adversos mínimos.

Para sangrados repetidos a intervalos más cortos, se puede extraer un máximo de 1% del volumen sanguíneo circulante cada 24 horas.

10.1. Técnicas aceptadas.

10.1.1 Extracción de sangre de vena mandibular en ratón y rata.

Anestesia: No requerida.

Material: Aguja 27G para ratón, aguja 21G para rata, lanceta.

Primero se debe localizar la pequeña zona circular desprovista de pelo situada centralmente en la mandíbula inferior (puede no estar presente en algunas cepas).

En la Figura 64 se muestran las venas que tiene un ratón en la cabeza.

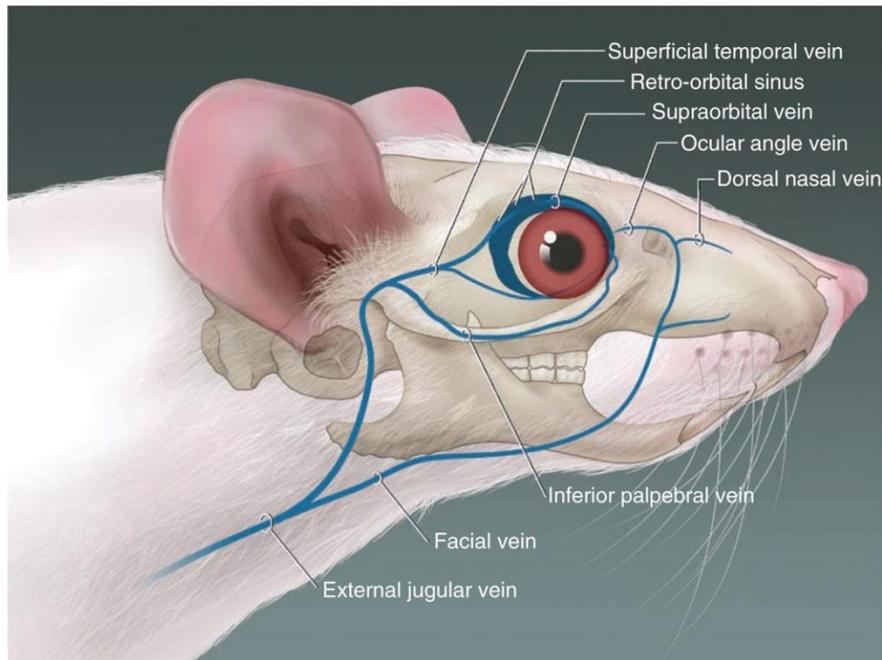


Figura 64. Localización de venas de la cara del ratón. Imagen tomada de

<https://www.nature.com.> ⁽⁶⁵⁾

MÉTODO.

Sujetar firme al ratón o a la rata de manera que la cabeza quede alineada con el cuerpo, es decir, que no esté inclinada hacia el tórax o hacia los lados, como se ve en la Figura 65.



Figura 65. Localización de la zona de punción de la vena mandibular. Fotos tomadas en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

Con una aguja de 27-21 G, dependiendo de la edad y/o tamaño del ratón, realizar la punción en la zona circular desprovista de pelo, como se ve en la Figura 66.



Figura 66. Punción de la vena mandibular en ratón y rata. Fotos tomadas en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

Después de puncionar se puede recoger la sangre en el recipiente adecuado teniendo en cuenta que el flujo será de aproximadamente una gota (20 μ l) por segundo y recordar que se debe raspar la zona de punción para estimular la salida de la gota de sangre. Ver Figura 67.



Figura 67. Obtención de sangre de la vena mandibular en ratón y rata.

Fotos tomadas en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

Una vez obtenida la muestra se libera al ratón o rata y el sangrado se detendrá automáticamente.

Para más información sobre esta técnica, se sugiere ir a anexos para ver el enlace de un video, donde se explica a detalle sobre esta técnica de obtención de sangre.

10.1.2 Extracción de muestra sanguínea de vena caudal en ratón y rata.

Anestesia: No requerida.

Material: Aguja 23G – 25G para ratón, aguja 21G para rata, contenedores.

MÉTODO 1.

La toma de muestras sanguíneas por la vena caudal puede realizarse en ratas y ratones, pueden tomarse múltiples muestras recordando empezar de distal a proximal para no perder la integridad del vaso sanguíneo.

En caso de no tener contenedores, el procedimiento se realiza con dos personas, una sujetará al animal y otra realizará la extracción de sangre.

MÉTODO 2.

Los ratones y ratas se pueden inmovilizar por medio de un contenedor específico de especie. Este sistema permite una adecuada exposición de la cola que facilita el procedimiento.

Al usar el contenedor, se debe ingresar al ratón o a la rata cuidadosamente, para evitar aplastar sus falanges, así como se ve en la Figura 68.

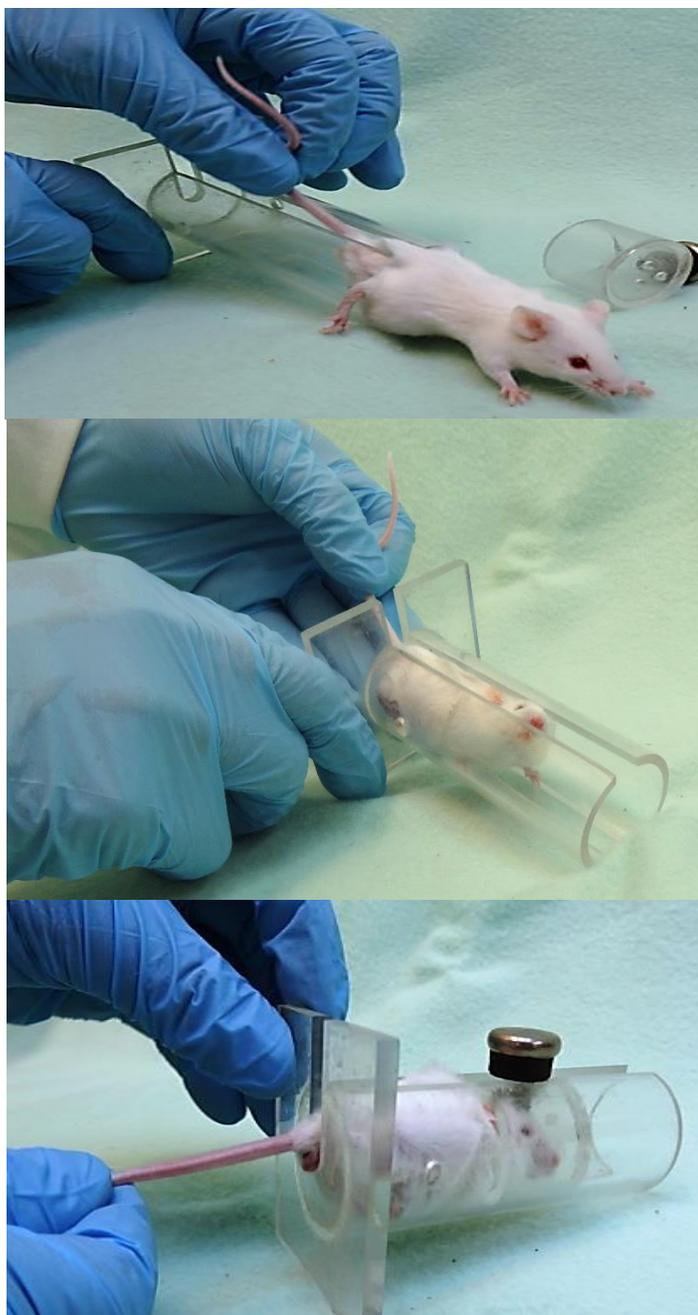


Figura 68. Ingreso del ratón al cepo de contención. Fotos tomadas en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

Antes de tomar la muestra, se pasa una torunda con alcohol al 96% sobre la vena caudal por la zona de extracción. Para evitar daños en la cola, no se deben tomar más de dos muestras de sangre por sesión en un período de 24 horas. Cuando sea

necesario y justificable tomar más, se debe considerar el uso de métodos de canulación temporal o quirúrgica. El número de intentos de tomar una muestra de sangre debe reducirse al mínimo (no más de tres pinchazos de aguja en un solo intento) y se debe dar suficiente tiempo para que la cola se recupere entre las sesiones de muestreo de sangre. Se deben usar lados alternativos de la cola y punciones sucesivas de la aguja movidas hacia la base de la cola como se ve en la Figura 69.

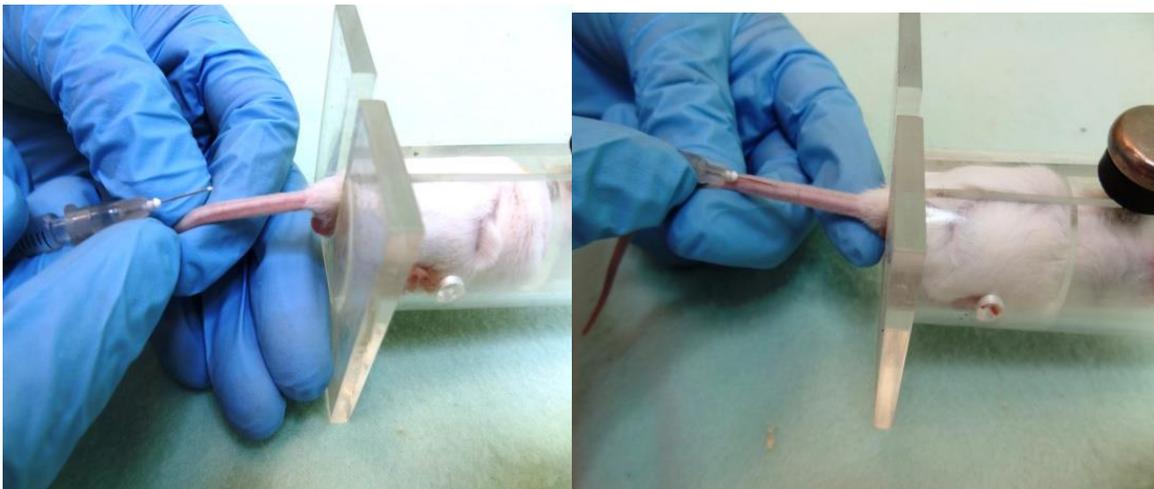


Figura 69. Obtención de sangre de la base de la cola del ratón. Fotos tomadas en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

Los volúmenes de extracción pueden ser de una a dos gotas por sesión, equivalentes a 0.1 o 0.15 ml (20 gotas equivalen a 1 ml).

10.1.3 Extracción de muestra sanguínea por punción de vena caudal distal en ratón y rata.

Anestesia: No requerida.

Material: Aguja 27G.

Esta técnica sirve cuando solo se requiere la obtención de una muestra de sangre no mayor a 0.02ml.

MÉTODO.

El procedimiento es fácil y sencillo, el animal debe estar restringido en un contenedor o sujetado por una persona para evitar que se mueva.

Se debe puncionar la terminación de la cola con una aguja 27G como se muestra en la Figura 70 y Figura 71, para obtener la muestra de sangre y poder colectarla.

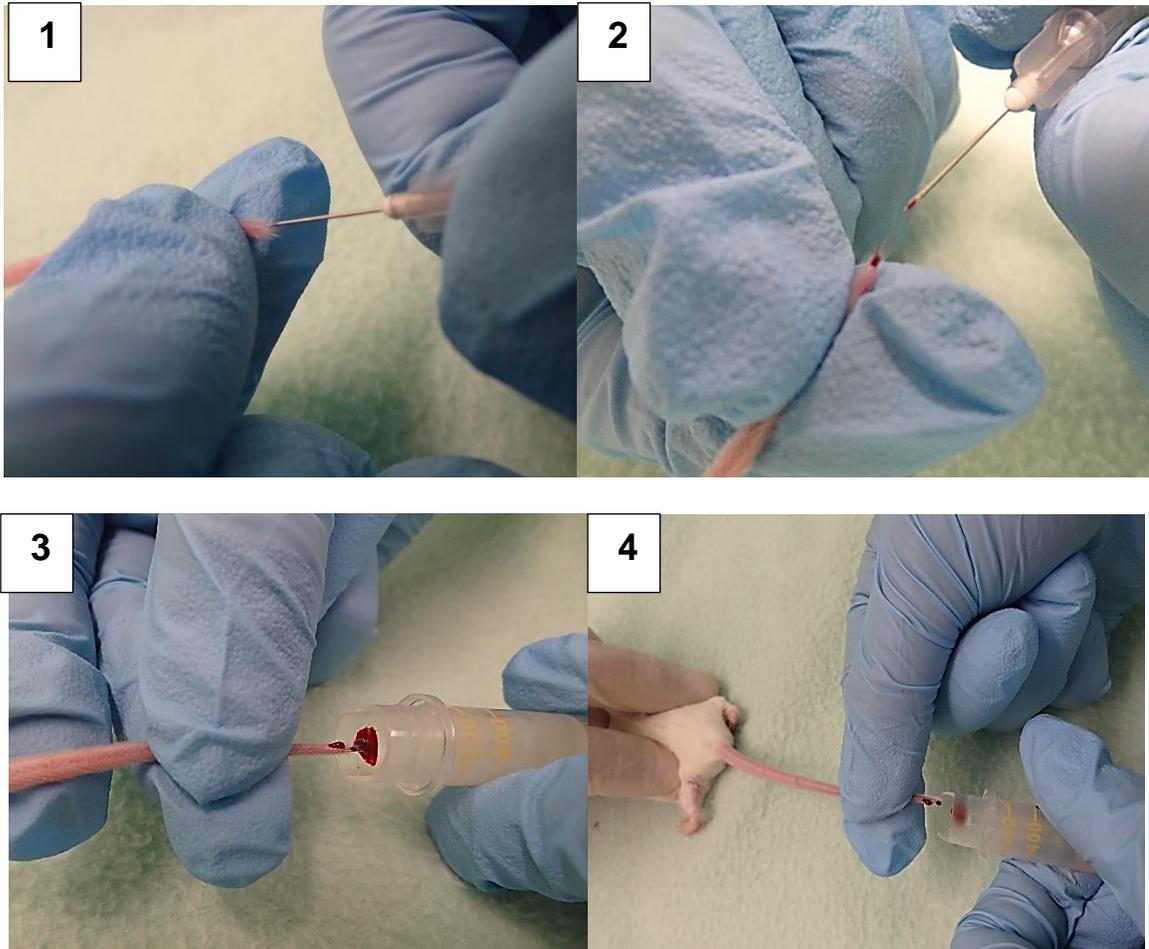


Figura 70. Punción de vena caudal distal en ratón. Fotos tomadas en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

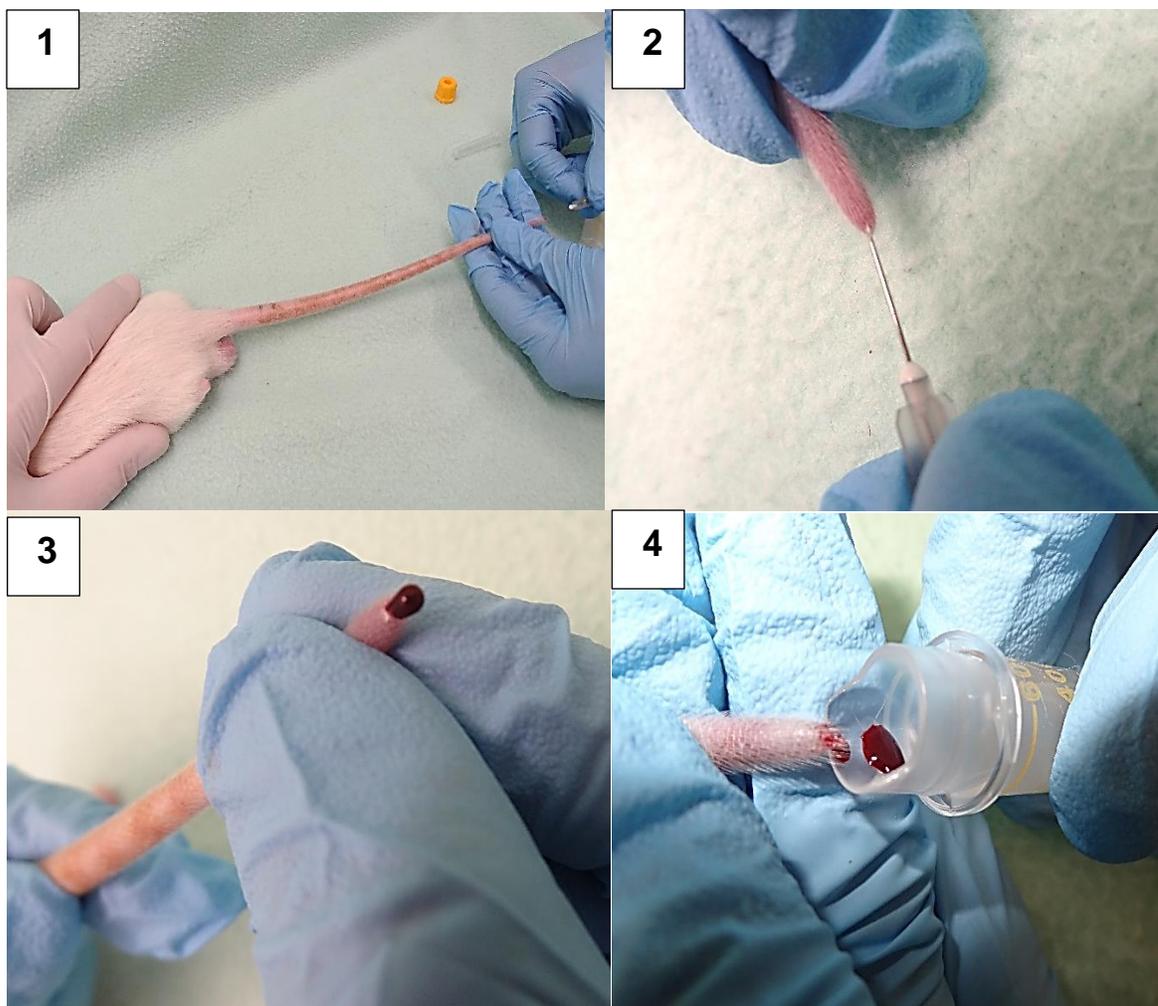


Figura 71. Punción de vena caudal distal en rata. Fotos tomadas en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

10.1.4 Extracción de muestra sanguínea de vena marginal en conejos.

Anestesia: No requerida.

Material: Mariposa 23G. Jeringa de 3ml. Tubos microtrainer.

En esta toma de muestra se localiza la vena marginal, la cual está a la orilla de la cara externa del pabellón auricular.

MÉTODO.

Antes de tomar la muestra sanguínea hay que dilatar la zona frotando desde la base de la oreja hacia el extremo, utilizando una torunda con abundante alcohol.

Para la sujeción del conejo se puede utilizar un cepo de contención o una persona puede inmovilizar al conejo como se ve en la Figura 72, quien tome la muestra debe detener la oreja de tal manera que siempre quede rígida y que no se doble, para evitar obstruir el flujo de la sangre o para no perforarla al momento de introducir la aguja.



Figura 72. Sujeción del conejo para toma de muestra sanguínea en vena marginal. Foto tomada en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

Hay que recordar que se debe ingresar la aguja con los filos del bisel hacia arriba, cuando la aguja esté dentro de la vena como se ve en la Figura 73, se debe de fijar la mariposa para evitar que se salga de la vena.



Figura 73. Ingreso de la aguja a la vena marginal. Foto tomada en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

La jeringa se sujeta con una mano y con un movimiento lento se jala el embolo para que la jeringa se vaya llenando de sangre como se ve en la Figura 74.



Figura 74. Obtención de sangre por vena marginal del conejo. Foto tomada en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

Una vez terminada la toma de muestra, se extrae la aguja y se coloca una torunda seca haciendo presión en la vena para que deje de sangrar. En seguida se deposita la muestra de sangre en los tubos microtainer, depositando la sangre con cuidado y por los bordes para evitar hemolisis.

10.2. Técnicas condicionadas.

10.2.1 Extracción de sangre del seno venoso orbital en ratón y rata.

Anestesia: Requerida.

Material: Tubos capilares con o sin anticoagulantes. Ver Figura 75.



Figura 75. Tubos capilares. Fotos tomadas en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

MÉTODO.

Esta técnica implica perforar el seno venoso que se localiza a un lado del globo ocular como se ve en la Figura 76 y se conoce de diferentes maneras como retro-orbital, peri-orbital, orbital posterior y sangrado del plexo venoso orbital de la comisura externa de los párpados.

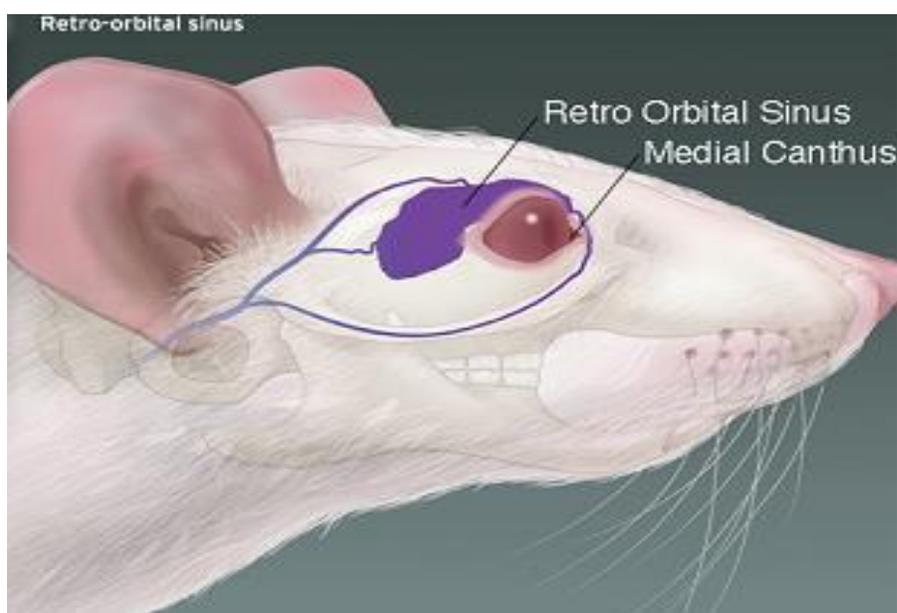


Figura 76. Localización del seno venoso. Imagen tomada de

<https://www.theodora.com.> ⁽⁶⁶⁾

Se recomienda hacer esta técnica en la comisura posterior o externa de los párpados, ya que en la comisura interna se encuentra la glándula de Harder y podría salir perjudicada.

El animal debe estar anestesiado antes de realizar esta técnica, se debe de colocar al animal sobre una superficie sólida, se sugiere colocarlo en la orilla de una mesa

y al sujetar la cabeza se deben de exponer los globos oculares, como se muestra en la Figura 77, para que se localice perfectamente la comisura donde se va a introducir el capilar.



Figura 77. Sujeción de la rata para exponer ojos. Fotos tomadas en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

Para obtener la muestra de sangre se usará un tubo capilar (es decir de tamaño 100 μ l). Se introduce el capilar a un lado del ojo y se empuja lateralmente a la órbita donde se localiza el seno venoso; se debe recordar que nunca se debe recargar en el globo ocular para no ocasionar daño.

Cuando el tubo capilar esté en el seno venoso se llenará de sangre, como se observa en la Figura 78 y Figura 79.

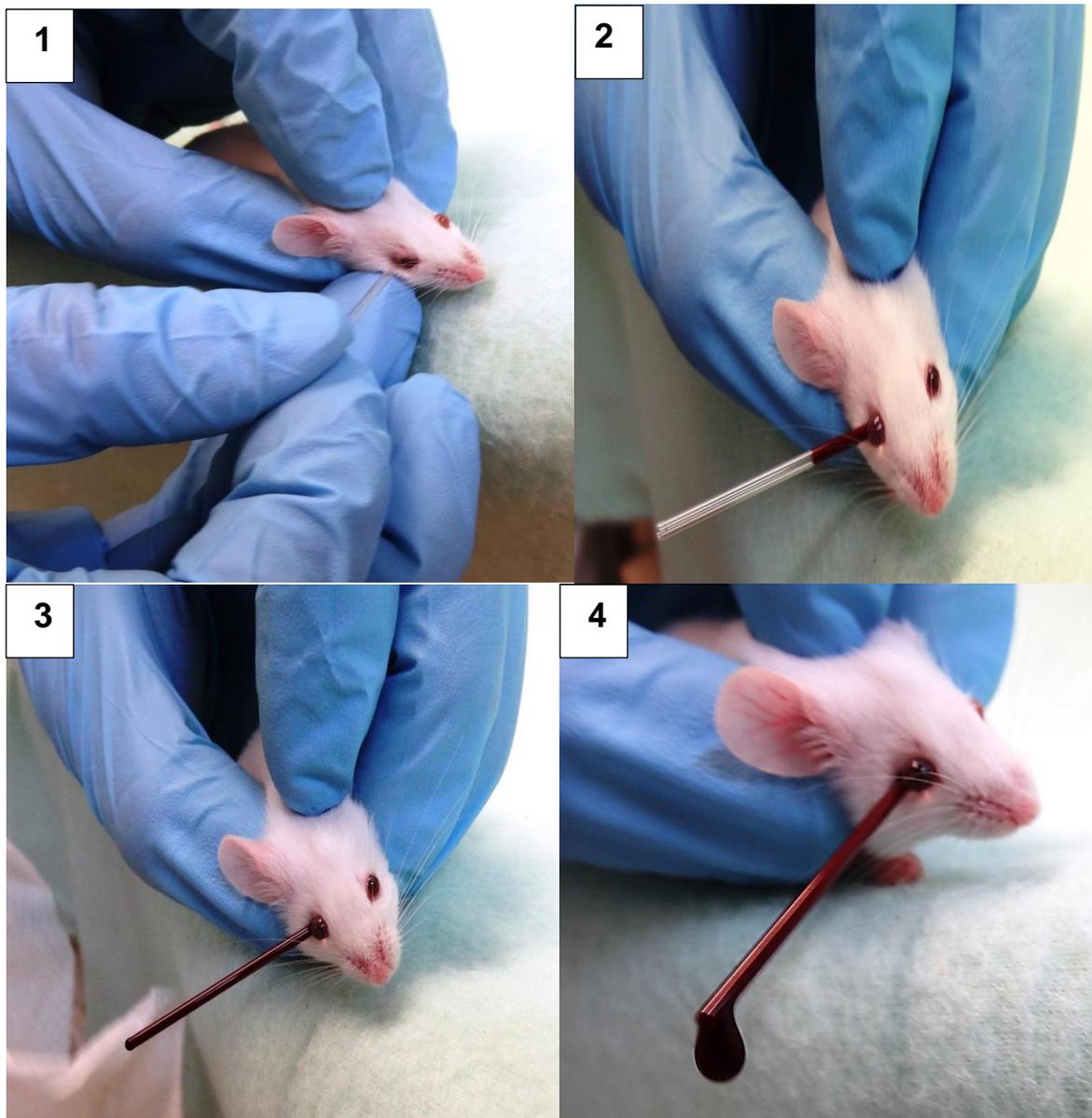


Figura 78. Toma de muestra del seno venoso en ratón. Fotos tomadas en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

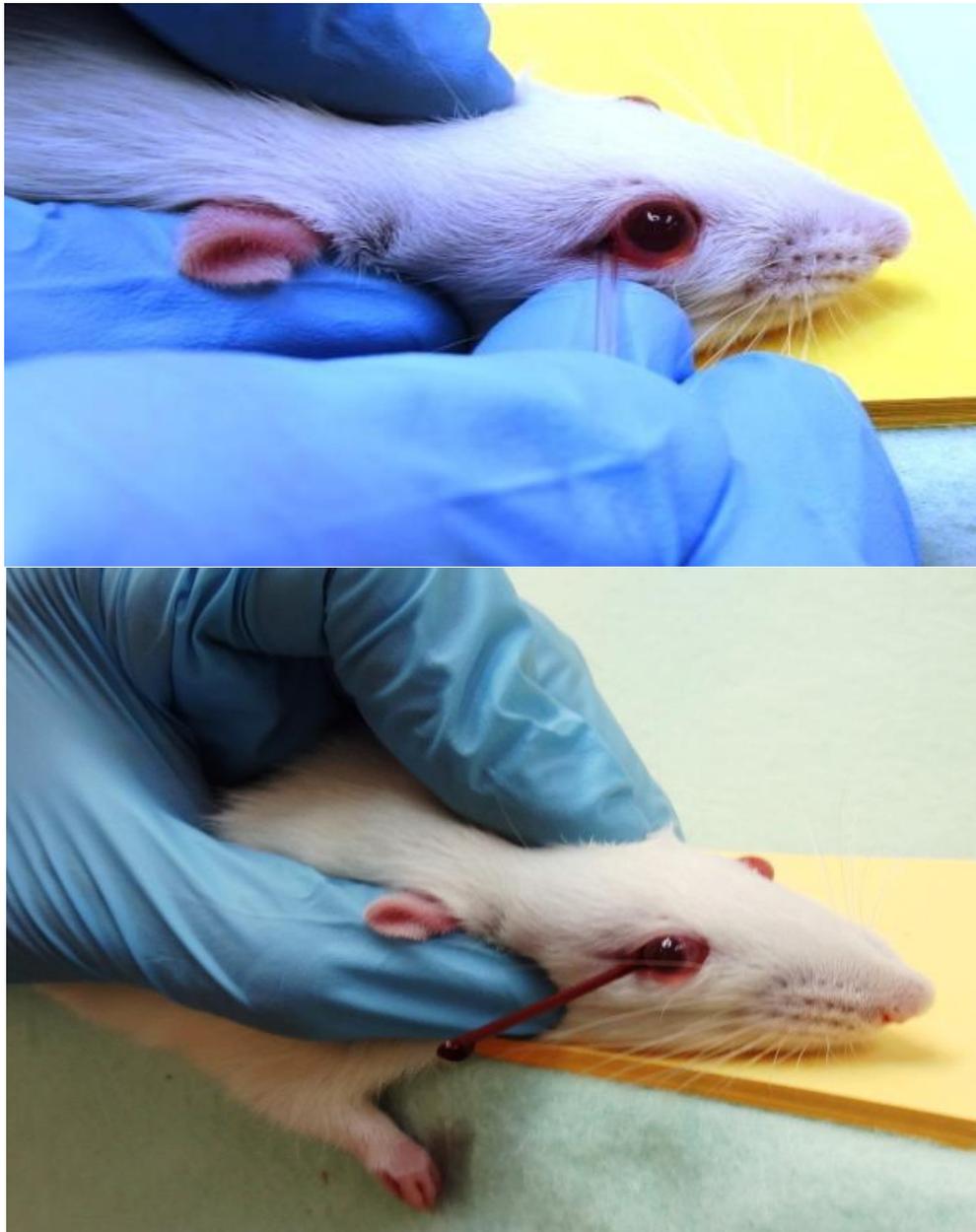


Figura 79. Toma de muestra del seno venoso derecho de la rata. Fotos tomadas en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

En el instante que se llena el tubo capilar, se recomienda soltarlo e inclinar al animal hacia el borde para que por gravedad la sangre fluya y sea más fácil de recolectar dicha muestra como se ve en la Figura 80.



Figura 80. Recolección de sangre del seno venoso de la rata. Foto tomada en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

Esta técnica permite hacerlo en ambos senos venosos, en la Figura 81 se muestra la recolección de sangre del seno venoso izquierdo.

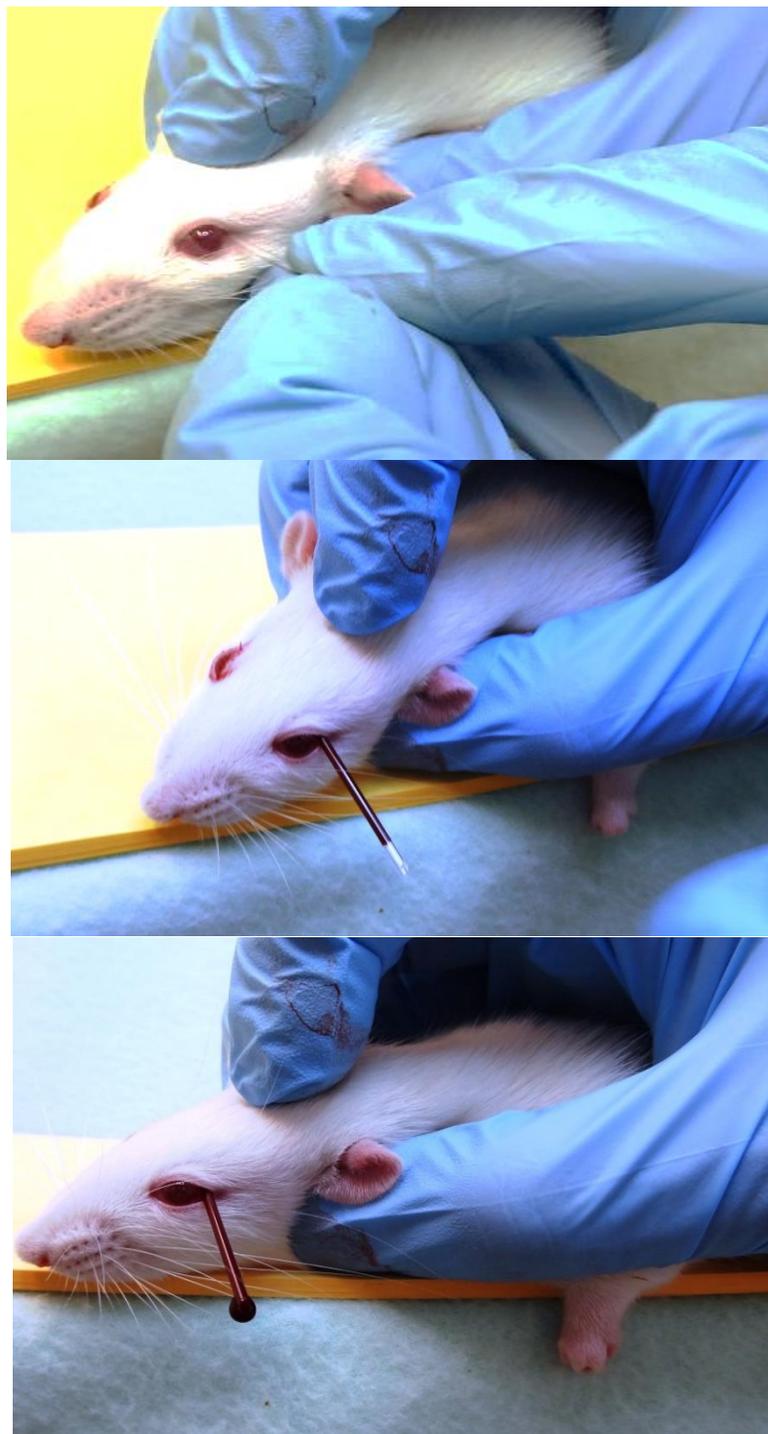


Figura 81. Toma de muestra del seno venoso izquierdo de la rata. Fotos tomadas en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

Con esta técnica se obtiene un mínimo de 100-200 μ l de sangre.

Se puede liberar momentáneamente el cuello antes de retirar el tubo capilar para minimizar la hemorragia del lugar de la punción.

Hay que tener cuidado de no dañar la córnea mientras se presiona los párpados para limitar la hemorragia después de haber obtenido la muestra.

10.2.2 Punción cardiaca.

Anestesia: Requerida. El animal en cuestión debe ser eutanasiado inmediatamente después del procedimiento.

Material: Aguja 23G – 25G para ratón. Aguja 22G - 21G para rata. Aguja 18G para conejo. Mariposa aguja 23G.

MÉTODO 1.

El animal previamente anestesiado se coloca en una superficie sólida y lisa, en el caso del ratón o de la rata se puede colocar sobre la palma de la mano acostada en posición dorsoventral.

En ratón se introduce la aguja calibre 25G del lado izquierdo de la cavidad torácica para localizar el corazón como se ve en la Figura 82. No se podrá diferenciar si se ingresó a aurícula o ventrículo.



Figura 82. Punción cardiaca en ratón. Fotos tomadas en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

Como detalle técnico es importante sujetar firmemente la jeringa y observar que la sangre suba a través de la aguja como se ve en la Figura 83.

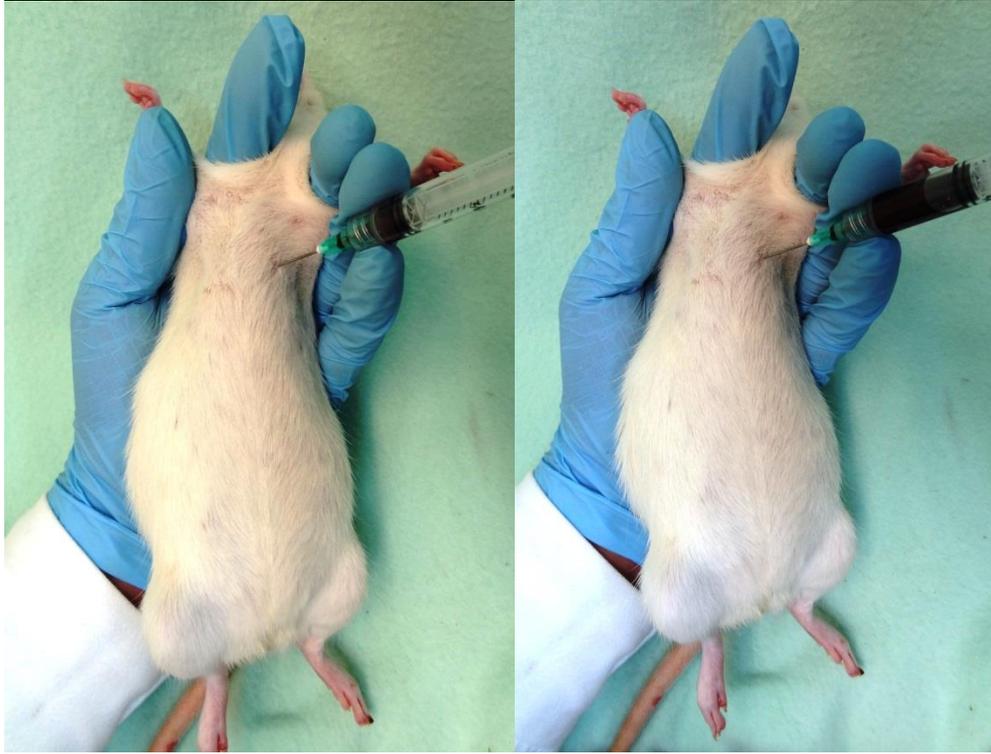


Figura 83. Punción cardiaca en rata. Fotos tomadas en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

MÉTODO 2.

En ratas se puede utilizar una aguja de mariposa conectada a una jeringa para obtener la muestra sanguínea, como se ve en la Figura 84.

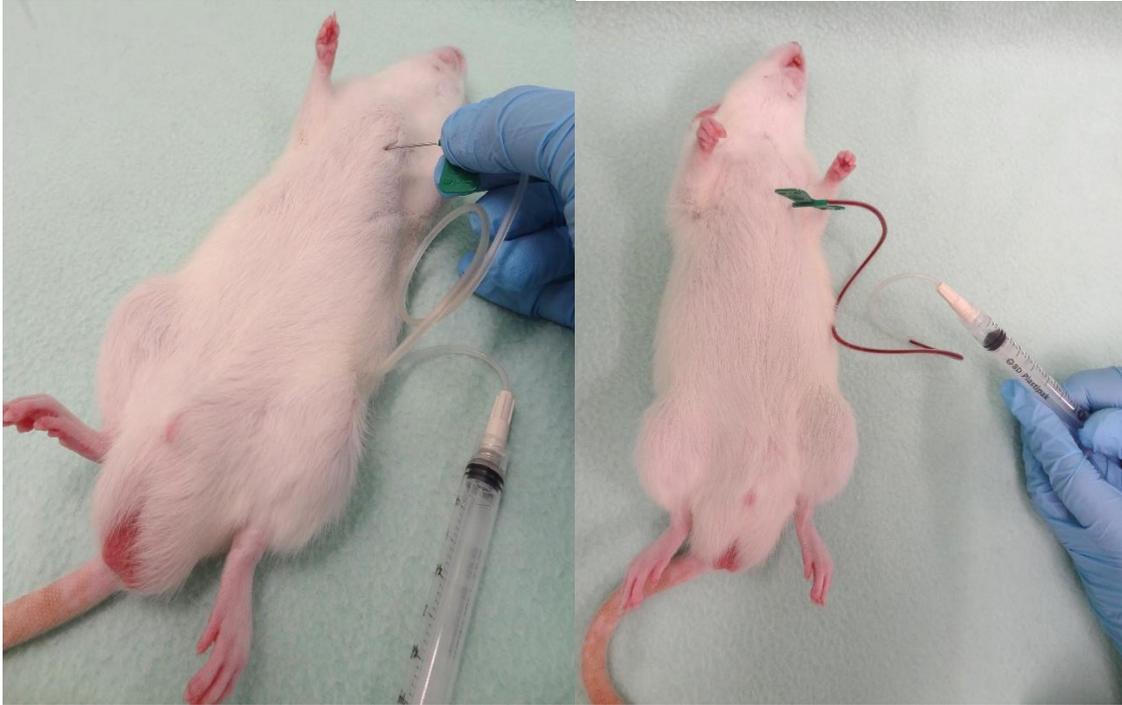


Figura 84. Obtención de sangre por punción cardiaca en rata. Fotos tomadas en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

Después de haber realizado la punción cardiaca en ratón y rata se debe aplicar inmediatamente la eutanasia al animal, ya que no se puede asegurar que se haya hecho correctamente sin haber ocasionado lesión al corazón o pulmones, por lo tanto, este método se debe de utilizar como un punto final en la investigación.

CONEJOS.

Anestesia: Requerida.

Material: Aguja 18G para conejo. Mariposa aguja 23G.

MÉTODO.

La punción cardíaca se realiza con el conejo anestesiado, colocarlo encima de una superficie sólida en posición decúbito dorsal, se debe sujetar en una tabla con armellas para amarrar sus cuatro miembros, como se ve en la Figura 85.

El corazón se localiza debajo del esternón, con el ápice hacia el lado izquierdo en la cavidad torácica, cranealmente entre la 2^a y la 5^a costilla, se puede situar palpando el tórax para sentir el latido cardíaco; donde se sienta más fuerte el latido se ingresa entre el espacio intercostal una aguja 18 G lateralmente a través de los músculos intercostales, la aguja deberá ser de 1 a 1 1/2 pulgada de largo para entrar al corazón y debe estar conectada a una manguera de venoclisis a una jeringa de 50 ml.

Se debe retraer el émbolo lentamente siguiendo el pulso, para evitar colapsar el corazón.

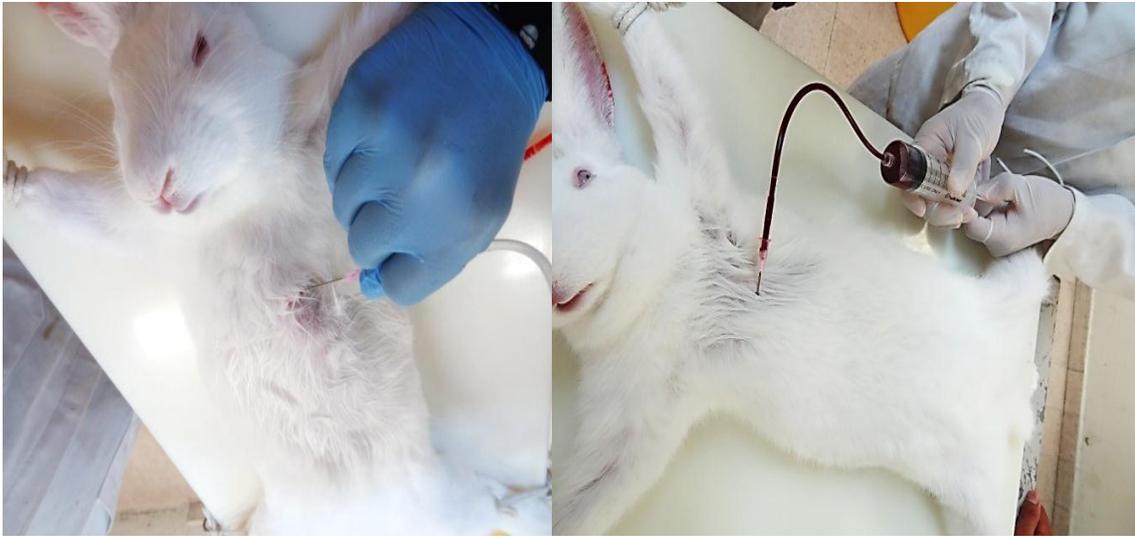


Figura 85. Punción cardiaca en conejo. Fotos tomadas en Bioterio Facultad de Química, Edificio A. UNAM; 2017.

Cuando se emplea este procedimiento con fines terminales, hay que asegurar la muerte después de la punción practicando un método de eutanasia.

XI. PARÁMETROS PARA DETERMINAR EL PUNTO FINAL DE UN EXPERIMENTO.

El punto final humanitario, designa el momento en el que se evita, se reduce o se pone fin al dolor y/o la angustia del animal experimental por medio de acciones tales como: administrar un tratamiento para aliviar el dolor y/o la angustia, terminar un procedimiento doloroso, retirar al animal del estudio o matar al animal con un método de eutanasia aceptable. ⁽⁶⁷⁾

La selección del punto final debe involucrar la valoración de un médico veterinario experto en la Ciencia de los Animales de Laboratorio y en su caso del Comité

Institucional para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio o Experimentación. ⁽⁶⁸⁾

Una vez que se ha reconocido el hecho de que todos los animales vertebrados son capaces de experimentar dolor y estrés, es esencial que el investigador principal o tutor de un alumno que maneja animales con fines experimentales, de docencia y de constatación de biológicos, considere el bienestar de estos y planifique su experimento.

Los tipos de estudios que son más invasivos y que como consecuencia pueden causar dolor intenso y estrés son principalmente: la administración de drogas tóxicas y modelos animales de enfermedades crónicas.

Por lo tanto, el investigador principal, es responsable de cumplir los siguientes puntos:

- Conocer los aspectos clínicos de la enfermedad, para así poder predecir el curso de la enfermedad y el grado de daño que pueda hacer.
- Observar a los animales diariamente, incluyendo fines de semana, sobre todo cuando el daño puede ser agudo o repentino, como en los ensayos de toxicidad.
- Planear el proyecto de tal forma que los momentos más críticos para el animal se presenten cuando algún miembro del grupo de investigadores esté presente.
- Definir anticipadamente en el protocolo, los tiempos o signos para la intervención.
- Diseñar el experimento pensando en un animal siempre en buen estado, considerando la minimización del sufrimiento y el uso del mínimo de animales; por ejemplo, cuando se implantan tumores debe procurarse hacerlo en sitios en donde se haga el menor daño o bien en áreas que no permitan la automutilación.

- Asegurar que las células tumorales inyectadas a los animales no estén contaminadas con agentes patógenos.

En el caso de aquellos estudios en los cuales la muerte de los animales es requerida como punto final del experimento tales como: estudios de toxicidad aguda, estudios de enfermedades infecciosas, ensayos de vacunas, ensayos de virulencia y algunos estudios de tratamientos de cáncer, el investigador principal debe proveer de la siguiente información:

- Una justificación fuerte y plena de los beneficios que se obtendrán.
- El número de animales por grupo claramente definidos y justificados por medio de un adecuado método estadístico.
- Especificar claramente las razones por las cuales el experimento no puede ser modificado para aplicar un punto final anticipado a la muerte. ⁽⁶⁸⁾

XII. EUTANASIA Y MÉTODOS DE MUERTE ACEPTABLES.

La eutanasia (del Griego Eu: bueno, thanatos: muerte = buena muerte) es un método de muerte que debe producir el menor sufrimiento posible (dolor, angustia y miedo), ⁽⁷⁾ por lo tanto la eutanasia significa “muerte sin dolor”, y se realiza cuando finaliza un experimento o porque el animal muestra una enfermedad incurable, que causa sufrimiento o una calidad de vida inaceptable, ⁽⁶⁸⁾ por lo cual debe producir una rápida pérdida de conciencia seguido por el cese de la función cardiaca, respiratoria y finalmente cerebral. ⁽⁷⁾

La NOM-062-ZOO-1999 describe que la eutanasia son los procedimientos empleados para inducir de manera humanitaria la muerte de los animales, con el propósito de eliminar o disminuir al mínimo dolor o estrés previo y durante el procedimiento. ⁽¹⁾

Algunos criterios de ayuda para aplicar la eutanasia en animales en experimentación son:

- Pérdida de peso progresiva hacia el estado de emaciación (se observan y/o palpan las espinas vertebrales).
- Cianosis.
- Áreas extensas de alopecia causadas por la enfermedad o experimentación.
- Pelo hirsuto, postura encorvada, abdomen distendido, letargia, especialmente debilidad prolongada (3 días).
- Tos, dificultad para respirar, descargas nasales/ oculares.
- Ictericia y/o anemia.
- Crecimiento rápido de masas o signos clínicos de neoplasia (excepto cuando se estén realizando estudios de cáncer).
- Signos neurológicos como torsión de la cabeza, temblor, convulsiones, caminado en círculos, parálisis o paresia, espasticidad y signos asociados con anorexia.
- Hemorragia por cualquier orificio natural.
- Lesiones que interfieran al animal para comer o beber.
- Signos clínicos sospechosos de enfermedad infecciosa que requiera la necropsia para su diagnóstico. ⁽⁶⁸⁾

El criterio de eutanasia, como muchos otros en el campo de la utilización de animales de laboratorio, ha evolucionado desde considerar eutanásico todo procedimiento que produce la muerte sin ocasionar dolor, hasta la necesidad de evitar también otras sensaciones como pánico, miedo, aprensión, ansiedad, pena, angustia o incomodad. ⁽⁷⁰⁾; en el Cuadro 13 se ejemplifica un protocolo de supervisión para roedores, el cual sirve de apoyo para saber si es necesario la eutanasia, propuesto por Morton y Griffiths. ⁽⁷¹⁾

Cuadro 13.

PROTOCOLO DE SUPERVISIÓN PARA ROEDORES DE LABORATORIO.

VARIABLE	RANGOS	PUNTUACIÓN
Pérdida de peso (de 0 a 3)	• Normal (no hay pérdida de peso o el animal crece normalmente).	0
	• Pérdida de peso inferior al 10%.	1
	• Pérdida de peso entre el 10% y 20%. Posible alteración en el aspecto o cantidad de heces.	2
	• Pérdida de peso superior al 20%, el animal no consume agua ni alimento.	3
Aspecto (de 0 a 3)	• Normal.	0
	• Pelo en mal estado.	1
	• Pelo en mal estado y/o presencia de secreciones oculares o nasales.	2
	• Postura anormal.	3
Comportamiento espontáneo (de 0 a 3)	• Normal.	0
	• Pequeños cambios.	1
	• Inactividad.	2
	• Automutilación, vocalización anormal, animales inquietos o inmóviles.	3
Comportamiento en respuesta a manipulación (de 0 a 3)	• Normal.	0
	• Pequeños cambios.	1
	• Cambios moderados.	2
	• Animales agresivos.	3
Puntuación total		

Modificada del protocolo propuesto por Morton y Griffiths, 1985.

Puntuación:

Desde 0-3 normal.

Desde 4-7 supervisar cuidadosamente considerar el uso de analgésicos.

Desde 8-11 sufrimiento intenso: administrar analgésicos.

Desde 12 eutanasia.

Existen varios métodos de eutanasia, en este manual mencionaremos solo los métodos aceptables y los aceptables condicionados.

El método aceptable de eutanasia, es un método que deja a un animal inconsciente e insensible por el cese de todas las funciones respiratorias, circulatorias y la actividad cerebral.

Los métodos aceptables condicionados, son métodos que se consideran “aceptables” solo si se cumplen las condiciones específicas, ya que tienen un mayor margen de error en su aplicación o por ser peligrosos para la seguridad de los operadores o porque no producen una muerte humanitaria consistentemente. ^(72, 69)

Las diferentes técnicas a menudo se dividen en métodos químicos y métodos físicos.

Métodos químicos de eutanasia:

- Sobredosis de agente anestésico (Por inyección, inhalación).
- Exposición al dióxido de carbono (Método condicionado)

Métodos físicos de eutanasia:

- Dislocación cervical.
- Decapitación.

De los métodos comúnmente utilizados son los anestésicos. Este método es más recomendable siempre y cuando no cause miedo o estrés al animal. Los animales estresados deben sedarse antes de aplicar el agente eutanásico.

En el Cuadro 14 se mencionan los métodos aceptables de eutanasia, que se aplican en las distintas edades del ratón y la rata.

Cuadro 14.

MÉTODOS ACEPTABLES DE EUTANASIA EN ROEDORES.

MÉTODOS DE EUTANASIA	RATÓN Y RATA ADULTOS	FETOS Y NEONATOS DE RATÓN Y RATA°
MÉTODOS QUÍMICOS.	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Inyección de barbitúricos y derivados del ácido barbitúrico. ▪ Combinaciones de agentes disociativos. (Ketamina, Xilacina, Diacepam). ▪ Isoflurano.* ▪ CO2 (dióxido de carbono)* 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Eutanasia de hembra gestante. ▪ Aplicación de barbitúricos inyectables en fetos. ▪ CO2 -dióxido de carbono en fetos (es necesaria la exposición durante 60min)*
MÉTODOS FÍSICOS.	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Dislocación cervical. Ratas <200 g. (Requiere capacitación y debe realizarse bajo anestesia)* ▪ Decapitación con guillotina. (Se recomienda sedación en los animales, si lo permite el protocolo. Las guillotinas deben afilarse y ajustarse con frecuencia para garantizar un rendimiento adecuado)* 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Decapitación con tijeras para los neonatos.(Usar tijeras quirúrgicas)* ▪ Extracción de fetos de madre eutanasiada. ▪ Hipotermia.* ▪ Dislocación cervical.

Tabla adaptada de: **The AVMA Guidelines for the euthanasia of animals; 2013.**

(73) °FETOS DE RATÓN Y RATA HASTA 15 DÍAS DE GESTACIÓN/ NEONATOS HASTA 10 DÍAS DE EDAD.

*MÉTODOS CONDICIONADOS.

En el Cuadro 15 se indican los métodos físicos y químicos aceptables de eutanasia en conejos.

Cuadro 15.

MÉTODOS ACEPTABLES DE EUTANASIA EN CONEJOS.

MÉTODOS DE EUTANASIA	CONEJO ADULTO	FETOS Y NEONATOS
MÉTODOS QUÍMICOS.	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Inyección de barbitúricos y derivados del ácido barbitúrico por vía intravenosa o intraperitoneal. ▪ Dióxido de carbono. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Eutanasia de hembra gestante. ▪ Aplicación de barbitúricos inyectables en fetos.
MÉTODOS FÍSICOS.	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Dislocación cervical. * (Conejos < 1kg). ▪ Decapitación con guillotina. ▪ Pistola de perno cautivo penetrante. ▪ Toracotomía bilateral, exanguinación.* (solo en conejos anestesiados). 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Extracción de fetos de madre eutanasiada. ▪ Hipotermia.* ▪ Dislocación cervical.

Tabla adaptada de: The AVMA Guidelines for the euthanasia of animals; 2013.

(73) * MÉTODO CONDICIONADO.

En el cuadro 16, se mencionan las características, ventajas y desventajas de los agentes más utilizados para realizar la eutanasia.

Cuadro 16.

CARACTERÍSTICAS Y MODO DE ACCIÓN DE AGENTES PARA LA EUTANASIA.

AGENTES	BARBITÚRICOS	DIÓXIDO DE CARBONO CO2	DISLOCACIÓN CERVICAL	ISOFLURANO
Clasificación	Hipoxia producida por la depresión de Centros vitales.	Hipoxia producida por la depresión de Centros vitales. Hipoxia producida por la depresión de centros vitales.	Hipoxia producida por la interrupción de los centros vitales.	Produce hipoxia por la interrupción de los centros vital.
Modo De Acción	Depresión directa de la corteza cerebral, estructuras subcorticales y centros vitales; depresión directa del músculo cardíaco.	Depresión directa de la corteza cerebral, estructuras subcorticales y centros vitales: depresión directa del músculo cardíaco.	Depresión directa del cerebro.	Depresión directa de la corteza cerebral, estructuras subcorticales y centros vitales.

Rapidez	Rápido al inicio de la anestesia.	Moderadamente rápido.	Moderadamente rápido.	Moderadamente rápida al inicio de la anestesia.
Eficacia Y Comentarios	Muy efectivo y aceptable cuando se administra por vía intravenosa e intraperitoneal en animales pequeños.	Efectivo, pero en animales inmaduros o neonatos requiere más tiempo de exposición.	Irreversible, violentas contracciones musculares pueden ocurrir después de la dislocación.	Muy efectivo si el animal está suficientemente expuesto
Ventajas	Induce la eutanasia suavemente, con el mínimo malestar para el animal.	No es inflamable. No es explosivo. Mínimo riesgo para el personal.	Es una técnica que puede provocar la inconsciencia inmediata. Se obtienen tejidos sin contaminación química.	Son útiles en animales previamente anestesiados, cuando no se desea que estos recobren el conocimiento.
Desventajas	Es necesaria la administración vía intravenosa para obtener mejores resultados.	En neonatos, el tiempo letal puede ser mayor.	El personal debe estar perfectamente entrenado. Puede resultar estéticamente desagradable.	Los animales muestran reacciones de excitación con lo cual no suelen ser aconsejables como agentes eutanásicos en animales con pesos >7 kg.

Tabla adaptada de: Aspectos técnicos y normativos para la eutanasia de los animales de experimentación, 2017. (74,69)

Es importante que se verifique la muerte del animal después de haber aplicado el método de eutanasia, verificando:

- La pérdida de la consciencia
- Paro respiratorio
- Pérdida de la actividad cardíaca de modo permanente
- Ausencia de reflejos pupilar y reflejo corneal (observar que ya no hay flujo sanguíneo en animales albinos).

XIII. MANEJO DE RESIDUOS BIOLÓGICOS INFECCIOSOS.

La NOM 087- ECOL-SSA1-2002 ⁽⁷⁵⁾ se encarga de la protección, salud ambiental y el manejo de los residuos peligrosos biológicos infecciosos, como es el caso de los cadáveres, agujas, desechos patológicos entre otros.

La norma también marca que se deben seguir las siguientes disposiciones:

- Identificación de los residuos
- Envasado de los residuos
- Almacenamiento temporal
- Recolección y transporte externo
- Tratamiento
- Disposición final

En el Cuadro 17, se describen las características del envasado e identificación de los residuos en base al color del contenedor, conforme a la NOM 087- ECOL-SSA1-2002. ⁽⁷⁵⁾

Cuadro 17

ENVASADO E IDENTIFICACIÓN DE LOS RESIDUOS.

TIPO DE RESIDUO	ESTADO FÍSICO	ENVASADO	COLOR
<ul style="list-style-type: none"> • Sangre. • Cultivos y cepas de agentes infecciosos. • Residuos no anatómicos derivados de la atención de pacientes y los laboratorios: <i>Guantes, gorros y cubrebocas, gasas, algodón, jeringa sin aguja, etc.</i> 	Sólidos	Bolsa de plástico	Rojo
	Líquidos	Recipientes herméticos	Rojo
<ul style="list-style-type: none"> • Patológicos: <i>Todos los cadáveres y/o miembros, órganos o fluidos de animales.</i> 	Sólidos	Bolsa de plástico	Amarillo
	Líquidos	Recipientes herméticos	Amarillo
<ul style="list-style-type: none"> • Punzocortantes: <i>Agujas, hojas de bisturí, navajas, cristalería rota, etc.</i> 	Sólidos	Recipientes rígidos	Rojo

Las bolsas deberán ser de polietileno de color rojo translúcido de calibre mínimo 200 y de color amarillo translúcido de calibre mínimo 300, impermeables y con un

contenido de metales pesados de no más de una parte por millón y libres de cloro, además deberán estar marcadas con el símbolo universal de riesgo biológico y la leyenda Residuos Peligrosos Biológico-Infeciosos.

Los desechos patológicos se colocan en bolsas amarillas como se menciona, se pesan e identifican con plumón indeleble, el peso, iniciales del analista y fecha. Posteriormente se depositan en el congelador del área de bioterio, destinado para almacenar los cadáveres temporalmente.

Dicho peso se registra en la Bitácora de animales que son matados o sometidos a muerte. Estos residuos son entregados semanalmente a una compañía colectora de Residuos Peligrosos Biológico-Infeciosos (RPBI), al igual que se entregan los contenedores de punzocortantes y los residuos no anatómicos, para posteriormente ser incinerados.

En la Figura 86 se muestra el programa de manejo de RPBI, que se utiliza en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.



Figura 86. Programa de manejo de RPBI. Imagen tomada de www.conevet.org.mx (76)

La secretaria del Comité Interno para el Manejo de Residuos Peligrosos (CIMARPE) con asesoría de la Unidad de Gestión Ambiental de la Facultad de Química, elabora un calendario de recolección de residuos químicos y punzocortantes, de acuerdo a las características y el volumen de los residuos generados. Este calendario se verifica con la empresa responsable de la recolección y disposición final de residuos.

ANEXOS.

BASES DE DATOS SOBRE MÉTODOS ALTERNATIVOS A LA EXPERIMENTACIÓN ANIMAL.

- AltBib (Resources for Alternatives to the Use of Live vertebrates in Biomedical Research and Testing).
- AltTox (Non-animal Methods for Toxicity Testing).
- Altweb (Alternatives to Animal Testing on the Web IJSH).
- AnimalAlt-ZEBET Database.
- DB-ALM (EURLECV AM Database Service on Alternative Methods to Animal Experimentation).
- HSVMA (Humane Society Veterinary Medical Association).
- InterNICHE.
- Interspecies Database.
- NORECOPA (Norway's National Consensus Platform).
- NORINA (Norwegian Inventory of Alternatives).
- TSAR (Tracking System for Alternatives methods Review, Validation and Approval in the Context of EU Regulations on Chemicals).
- UC Davis Center for Animal Alternatives.

REVISTAS ACADÉMICAS SOBRE MÉTODOS ALTERNATIVOS.

- Alternatives to Animal Experimentation (ALTEX).
- American Society for Cellular and Computational Toxicology (ASSTC).
- Alternatives to Animal Testing and Experimentation (AATEX).
- Japanese Society for Alternative to Animal Experiments.
- Alternatives to Laboratory Animals (ATLA) Fund for the Replacement of Animals in Medical Experiments.
- Toxicology inVitro. Elsevier.

LISTA DE ORGANIZACIONES QUE PROMUEVEN EL USO ÉTICO DE ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.

- American Association for Laboratory Animal Science (AALAS)
- Asociación Argentina para la Ciencia y Tecnología de Animales de Laboratorio (AACyTAL)
- Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care International (AAALAC International)
- Asociación Científica Centroamericana y Mexicana sobre Animales de Laboratorio (ACCMAL)
- American College of Laboratory Animal Medicine (ACLAM)
- American Veterinary Medical Association (AVMA)
- Association for Gnotobiotic (AG)
- Asociación Mexicana de Ciencia de Animales de Laboratorio (AMCAL)

- Canadian Association for Laboratory Animal Medicine/ L'association canadienne de la médecine des animaux de laboratoire (CALAM/ACMAL)
- Canadian Association for Laboratory Animal Science/ Association Canadienne pour la Science des Animaux de Laboratoire (CALAS-ACSAL)
- Canadian Council on Animal Care (CCAC)
- Center for Alternatives to Animal Testing, The Johns Hopkins University (CAAT)
- European College of Laboratory Animal Medicine (ECLAM)
- European Federation of Animal Technology (EFAT)
- European Society of Laboratory Animal Veterinarians (ESLAV)
- Federation of European Laboratory Animal Science Associations (FELASA)
- Food and Drug Administration (FDA)
- International Association of Colleges of Laboratory Animal Medicine (IACLAM)
- International Council for Laboratory Animal Science (ICLAS)
- Institute for Laboratory Animal Resources (ILAR)
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA)
- Sociedad Brasileña de Ciencia en Animales de Laboratorio (SBCAL)
- Sociedad Española para las Ciencias del Animal de Laboratorio (SECAL)
- The American Society of Laboratory Animal Practitioners (ASLAP)
- Universities Federation for Animal Welfare (UFAW)

SITIOS DE VENTA DE ALIMENTO Y ANIMALES DE LABORATORIO EN MÉXICO.

- ENVIGO®- envigo.com
- MAZURI® - mazuri.com
- LabDiet® - labdiet.com
- TestDiet® - testdiet.com
- The Jackson Laboratory – jax.org
- Taconic – taconic.com
- Charles River – criver.com
- La Unidad de Experimentación Animal (UNEXA-Harlan) -
<http://quimica.unam.mx>
- UPEAL- Cinvestav - <http://administracion.cinvestav.mx>
- UPEAL UAM XOCHIMILCO.

SITIOS DE VENTA DE EQUIPO PARA BIOTERIOS EN MÉXICO.

- Vetflexxs.a.- Vetflexx.com
- Thermolab® -<https://thermolab.mx>
- Circulo ADN. S.A de C.V. - circuloadn.com.mx
- SOLUCIONES MG - solucionesmg.com.mx
- EEE México® - grupoeeee.com
- CIMA® Industries Inc. - cimaindustries.com
- Lab-Tech® -labtech.com.mx

SITIOS WEB SOBRE INVESTIGACIÓN ANIMAL.

- Extracción de sangre de vena mandibular (video youtube=
https://www.youtube.com/watch?v=95yb_uAAQew)
- www.jove.com. Página web de investigación y educación científica.
- www.labanimal.com. Página web de información, métodos y materiales para el profesional de la investigación animal.

REFERENCIAS.

1. Norma Oficial Mexicana. NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio, (6 de diciembre de 1999). Diario Oficial de la Federación.
2. Bioterios y Laboratorios de Experimentación Animal. [Página principal en Internet],[20/10/16.12:12].http://www.urbe.fmed.edu.uy/cursos/animales_experimentacion/Macro%20y%20micro%20ambiente.pdf.
3. Petryna A, Bavera GA. ETOLOGÍA. Cursos de Producción Bovina de Carne. Sitio Argentino de Producción Animal. FAV UNRC. 2002.
4. Martin GO. Etología y comportamiento animal: principios de bienestar animal [Libro digital, PDF] 1a edición para el alumno - San Miguel de Tucumán: Universidad Nacional de Tucumán. Facultad de Agronomía y Zootecnia, 2016.
5. Benavides JF., Guénet JL. Manual de genética de roedores de laboratorio. España: Sociedad Española para las Ciencias del Animal de Laboratorio;2003.
6. Laboratory Animals Centre. National University of Singapore. The laboratory mouse. Singapore: National University of Singapore; 2007.
7. Comité Asesor de Bioética. 4to Taller de Bioética. "Aspectos Bioéticos de la Experimentación Animal". FONDECYT-CONICYT. Enero; 2009.
8. Langford, D.J., Bailey, A.L., Chanda, M.L., Clarke, S.E., Drummond, T.E., Echols, S., Glick, S., Ingrao, J., Klassen-Ross, T., LaCroix-Fralish, M.L., Matsumiya, L., Sorge, R.E., Sotocinal, S.G., Tabaka, J.M., Wong, D., van den Maagdenberg, A.M.J.M., Ferrari, M.D., Craig, K.D., and Mogil, J.S. Coding of facial expressions of pain in the laboratory mouse. Nature Methods, in press. 2010 jun;7(6):447-9.

9. Hrapkiewicz K., Colby L., Denison P. Clinical laboratory animal medicine an Introduction. 4th. USA: Iowa State University Press; 2013.
10. Wolfensohn S, Lloyd M. Handbook of laboratory animal management and welfare. 4th edit. Uk: Wiley-Blackwell, 2013.
11. Hawkins P, Hubrecht R, Buckwell A, Cubitt S, Howard B, Jackson A, Poirier G, editors. Refining rabbit care: A resource for those working with rabbits in research. RSPCA. UFAW; 2008.
12. Lynn A., Glen O., Pritchett-Corning K., Mark W, editors. Laboratory Animal Medicine. 3rd Edition. Academic Press: Elsevier Inc; 2015.
13. Sirois M. Laboratory animal and exotic pet medicine: principles and procedures. 2nd Edition. St. Louis, Missouri: Elsevier; 2016.
14. Sapontzis SF. Imitando a las personas: pros y contras. El proyecto "Gran simio". La igualdad más allá de la humanidad. Cavalieri P y Singer P, eds. Trotta: Madrid; 1998; p. 336- 337.
15. Vanda CB. La bioética en el trato a los animales destinados a la investigación y la enseñanza (BADIE). Gaceta CONBIOÉTICA. Nov 2012; II(6):12-13.
16. Cortina A. Bioética para el siglo xxi: construyendo esperanza. Revista Iberoamericana de Bioética. No 01 / 01-12 [2016].
17. Gracia D. Fundamentación y enseñanza de la Bioética. El Búho, Santa Fe de Bogotá, D.C; 2009.
18. Landínez, AY, et al, (Julio-diciembre, 2014). Bioética y Bienestar Animal en Medicina Veterinaria. CONEXAGRO JDC Vol. 4, No 2. pp. 79-89.

19. Arvizu TL, Téllez RR. Bienestar animal en México. Un panorama normativo. UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO. Ciudad Universitaria, Coyoacán, C.P. 04510, Ciudad de México. Nov 2016.
20. Chan S, Palafox FI, Arellano MJ. Bioética y bioderecho. Reflexiones clásicas y nuevos desafíos. [libro electrónico]. México: Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de investigaciones jurídicas; 2018 [Consultado: 10 de Febrero de 2019]. Disponible en:
<https://archivos.juridicas.unam.mx/www/bjv/libros/10/4733/23.pdf>
21. Taylor PW. Respect for Nature: A theory of environmental ethics. 25th anniversary ed. Princeton University Press. Apr 2011.
22. National Centre for the Replacement Refinement & Reduction of Animals in Research. [Página principal en Internet], [acceso 24. Mayo.2016].
<http://www.nc3rs.org.uk/the-3rs>.
23. Utrecht University. [homepage on the Internet]. Netherlands: organization; c2018 [updated 2018 Aug; cited 2018 Aug 27]. Available from:
<https://www.uu.nl/en/organisation/3rs-centre-uls/3rs>
24. Góngora MM. et al, (Diciembre, 2010). Reconocimiento y manejo del estrés, sufrimiento y dolor en animales de laboratorio: una revisión. Fundación Universitaria Konrad Lorenz, Colombia; Vol. 17, No 2.
25. Mrad de Osorio, A. Ética en la investigación con modelos animales experimentales. Alternativas y las 3 RS de Russel. Una responsabilidad y un compromiso ético que nos compete a todos. Revista Colombiana de Bioética; enero-junio 2006;1(1):163-183.

26. Khoshen H. Enriquecimiento y Bienestar de Mamíferos en Cautiverio. Manual para centro y sur américa. 1ª ed. Panamá, República de Panamá. 2013.
27. Baumans V. Environmental Enrichment for Laboratory Rodents and Rabbits: Requirements of Rodents, Rabbits, and Research. National Research Council, ILAR Journal. Feb 2005;46(2):162-170.
28. Hubrecht RC, Kirkwood J, Editors. The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory and Other Research Animals. 8th Edition. Wiley-Blackwell; 2010.
29. Hutchinson E, Avery A, VandeWoude S. Environmental Enrichment for laboratory rodents. ILAR Journal. Jan 2005;46(1):148-161.
30. Enriquecimiento ambiental en ratones. Imagen disponible en: <https://www.nc3rs.org.uk/3rs-resources/housing-and-husbandry/rodents#Basic%20requirements> [Consultado el 05-06-2018].
31. NC3RS [base de datos en Internet]. 3Rs resources:NC3Rs (London);2013 – [acceso 05 de junio de 2018]. Resources hubs; [1 página]. Disponible en: <https://www.nc3rs.org.uk/3rs-resources/housing-and-husbandry/rodents#rats>
32. Enriquecimiento ambiental en ratas. Imagen disponible en: <https://www.nc3rs.org.uk/iat-congress-2017-workshop-summary-playtime-rats> [Consultado el 05-06-2018].
33. NC3RS [base de datos en Internet]. 3Rs resources:NC3Rs (London);2013 – [acceso 07 de junio de 2018]. Resources hubs; [1 página]. Disponible en: <https://www.nc3rs.org.uk/3rs-resources/housing-and-husbandry/rabbits>
34. Liss C., Litwak K., Tilford D., Reinhardt V. Comfortable Quarters for laboratory animals. Animal Welfare Institute. Pennsylvania, Washington DC, U. S. A;2015.

35. Enriquecimiento ambiental en conejos. Imagen disponible en:
<https://www.nc3rs.org.uk/3rs-resources/housing-and-husbandry/rabbits>
[Consultado el 07-06-2018].
36. Disposiciones Generales del Plan Institucional para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio en la Facultad de Química. UNAM. [acceso: 15 Febrero 2017. 11:05 am]. <http://quimica.unam.mx/investigacion/servicios-para-la-investigacion/unidad-de-experimentacion-animal-unexa/picual/>
37. Hernández S. El modelo animal en las investigaciones biomédicas. Facultad de Medicina (UdelaR) BIOMEDICINA, 2006, 2 (3) – 252-256.
38. O'Malley B. Anatomía y fisiología clínica de animales exóticos. España: Servet;2007.
39. Dintzis S, Treuting P. Comparative anatomy and histology a mouse and human atlas. UK: Elsevier; 2012.
40. Esqueleto del ratón. Imagen disponible en:
https://www.exploringnature.org/graphics/teaching_aids/Mouse_bones_worksheet.pdf [Consultado el 14-05-2017].
41. Sistema digestivo del ratón. Imagen disponible en:
www.gettyimages.es/ilustraciones/sistema-digestivo-animal?sort=mostpopular&mediatype=illustration&phrase=sistema%20digestivo%20animal [Consultado el 20-05-2017].
42. Suckow MA, Danneman P, Brayton C. The laboratory mouse. A volume in the laboratory animal pocket reference series. USA: CRC Press; 2001.
43. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Bioterio.
[acceso: 19/mayo/2017.2:18pm] www.uaeh.edu.mx/bioterio/animales_expe.html

44. McCracken TO, Kainer RA, Carlson D. Color atlas of small animal anatomy: The essentials. USA: Blackwell Publishing, 2008.
45. Romero AJ, Medellín RA. Rattus norvegicus. Vertebrados superiores exóticos. [Última actualización 7 febrero 2005], [acceso: 19/mayo/2017.1:33pm]. <http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/exoticas/fichaexoticas/Rattusnorvegicus00.pdf>
46. Suckow M, Weisbroth S, Franklin C, editors. The Laboratory Rat. 2nd Edition. San Diego, California: Academic Press, 2006.
47. Anatomía de la rata. Imagen disponible en: <http://www.lifeinharmony.me/anatomy-of-mouse-kidney/anatomy-of-mouse-kidney-dissection-lab-biology-with-mrs-h> [Consultado el 20-05-2017].
48. Quesenberry KE, Carpenter JW. Ferrets, rabbits and rodents: Clinical medicine and surgery. 2nd edition. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier, 2003.
49. Mourelle AC, Herrero E, Ricca M. Recomendaciones para manipulación y sujeción de ratas y ratones de laboratorio. Spei Domus. 2013; 9(19):39-47.
50. Instituto de Salud. Ministerio de Salud de Perú. Guía de Manejo y Cuidado de Animales de Laboratorio: Conejo. Lima, Perú. 2010.
51. Bayne K, Turner PV, editors. Laboratory animal welfare. American college of laboratory animal medicine series. UK, USA: Elsevier; 2014.
52. Percy DH, Barthold SW. Pathology of laboratory rodents and rabbits. 3rd edition. Iowa, USA: Blackwell Publishing; 2007.
53. Aspinall V. Manual completo de la enfermería veterinaria. Anatomía y fisiología comparadas de las especies exóticas. 1^a ed. UK: Paidotribo; 2014.

54. Harcourt BF. Textbook of rabbit medicine. 1^a ed. Oxford: Butterworth-Heinemann; 2002.
55. Gómez MA, Bustamante GR. Manual para el uso y manejo de animales de laboratorio. UNAM. México (DF).2001.
56. Partes del bisel. Imagen disponible en: <http://www.bd.com/es-mx/offerings/syringes-and-needles>. [Consultado el 12-05-2017].
57. Músculos del ratón. Imagen disponible en: https://theodora.com/rodent_laboratory/injections.html. [Consultado el 27-08-2018].
58. Torres MB. Importancia de uso de diferentes anestésicos con amplio margen de seguridad en animales de laboratorio (RATA, RATÓN Y CONEJO). [Tesis]. México: UNAM. Facultad de Química; 2009.
59. Ernest D. Olfert, DMV; Brenda M. Cross, DMV; A. Ann Mc William. Manual sobre el cuidado y uso de animales de laboratorio. Consejo Canadiense de Protección de los Animales. Vol 1. 1998.
60. Universidad de Málaga. Analgesia quirúrgica. Refinamiento en protocolos quirúrgicos en animales de experimentación. Málaga: CEUMA.
61. Manual de la OIE sobre animales terrestres. Recogida y envío de muestras para el diagnóstico. 2008.
62. Extracción de Sangre en los Mamíferos y Aves de Laboratorio. Primer informe del grupo conjunto de trabajo BVA/FRAME/RSPCA/UFAW sobre el refinamiento. Artículo original en inglés publicado en *Laboratory Animals* (1993) 27, 1-22.
63. Diehl KH et al. A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes. *J Appl. Toxicol.* 21:15-23 (2001).

64. Dingell John. Blood Collection: Maximum Volumes and Fluid Replacement. Wayne State University: Institutional Animal Care and Use Committee Standard Operating Procedure; 2016.
65. Venas de la cara del ratón. Imagen disponible en:
<https://www.nature.com/articles/laband0511-155> [Consultado el 27-05-2017].
66. Localización del Seno Venoso. Imagen disponible en:
https://theodora.com/rodent_laboratory/blood_collection.html [Consultado el 27-05-2017].
67. OIE (Organización Mundial de Sanidad Animal). Código sanitario para los animales Terrestres. Capítulo 7.8. Utilización de Animales en la investigación. [Última actualización 2013], [acceso: 19/marzo/2019.4:33pm].
http://www.oie.int/index.php?id=169&L=2&htmfile=chapitre_aw_research_education.htm
68. Navarro HJA, Ramírez ORA, Villagrán VC. Manual de procedimientos recomendables para la investigación con animales. 1ª ed. México: Samsara Editorial; 2012.
69. Candanosa AI, Aburto FA, Lima MA, Méndez MD, Morales SE, Ramírez LJ, Mayagoitia AL, Ramírez DG, Romero RL, Rubio LM, Salas GG, Vanda CB. Guía práctica de necropsias en los animales domésticos. 1ª ed. UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO. Ciudad Universitaria, Coyoacán, 04510, Ciudad de México. Abril 2011.
70. Cardozo CA, Martínez CC, Rodríguez YE, Stepke FL, Mrad de Osorio A, editores. El animal como sujeto experimental aspectos técnicos y éticos. 1ª ed. CIEB, Universidad de Chile; 2007.

71. Morton DB, Griffiths PH. *Veterinary Record*, 116: 431-36, April 20, 1985.
72. University of California, Irvine Office of Research. [Homepage on the Internet]. Euthanasia of Research Animals [update 2019 Apr; cited 2019 Apr 20]. Available from: <https://www.research.uci.edu/compliance/animalcare-use/research-policies-and-guidance/euthanasia.html>
- American Veterinary Medical Foundation AVMA. *The Guidelines for the euthanasia of animals*. Creative commons; 2013.
73. American Veterinary Medical Foundation AVMA. *The Guidelines for the euthanasia of animals*. Creative commons; 2013.
74. Melgar RM, Pérez LM, Cantalapiedra JJ, Camiña GM, Yllera FM, Puerta VJL, Toubes CJL, Melenchón RF. *Aspectos técnicos y normativos para la eutanasia de los animales de experimentación*. Xunta de Galicia. Consellería de Medio Rural. Santiago de Compostela; 2017.
75. Norma Oficial Mexicana. NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo, (febrero del 2003). *Diario Oficial de la Federación*.
76. Programa de manejo de RPBI. Imagen disponible en: http://conevet.org.mx/appvisitas2013/public/uploads/27_9_20__2.pdf [Consultado el 17-01-2018].

FIGURAS

Figura 1. Evaluación del dolor en ratón.....	9
Figura 2. Evaluación del dolor en la rata.	12
Figura 3. Evaluación del dolor en conejo.	15
Figura 4. Enriquecimiento ambiental en ratones.	24
Figura 5. Enriquecimiento ambiental en ratas.	25
Figura 6. Enriquecimiento ambiental en conejos.....	27
Figura 7. Factores ambientales.....	34
Figura 8. Modelos animales más utilizados.....	36
Figura 9. Esqueleto del ratón.	39
Figura 10. Sistema digestivo del ratón.	40
Figura 11. Sexado en ratones.....	41
Figura 12. Sujeción del ratón por la parte media de la cola.....	42
Figura 13. Pasos para sujetar un ratón de la piel.	43
Figura 14. Sujeción correcta de un ratón.	44
Figura 15. Esqueleto de rata.....	46
Figura 16. Anatomía de la rata.....	48
Figura 17. Sexado en ratas.....	49
Figura 18. Sujeción de rata por la base de la cola.	50
Figura 19. Sujeción para traslados cortos de una rata.	50
Figura 20. Pasos para sujetar una rata.	52
Figura 21. Esqueleto del conejo.....	55
Figura 22. Fórmula dental del conejo.	56

Figura 23. Sistema digestivo del conejo.....	57
Figura 24. Manejo para sexar conejo.....	58
Figura 25. Sexado en conejos.....	59
Figura 26. Pasos para sujetar un conejo.....	60
Figura 27. Sujeción para transportar un conejo.....	60
Figura 28. Calibres de agujas hipodérmicas.....	62
Figura 29. Partes de una aguja hipodérmica.....	62
Figura 30. Partes del bisel.....	63
Figura 31. Administración vía subcutánea en ratón.....	66
Figura 32. Administración vía subcutánea en región lateral del ratón.....	67
Figura 33. Vía de administración subcutánea en rata.....	68
Figura 34. Vía de administración subcutánea en la región lateral de la rata.....	68
Figura 35. Sujeción del conejo.....	70
Figura 36. Sujeción de la cabeza y región pélvica del conejo.....	71
Figura 37. Sujeción del conejo por la cabeza y tórax.....	72
Figura 38. Vía de administración subcutánea en conejos.....	73
Figura 39. Músculos del ratón.....	74
Figura 40. Sujeción y administración intramuscular en ratón.....	75
Figura 41. Vía de administración intramuscular en ratón.....	76
Figura 42. Nombre de los músculos de la rata.....	77
Figura 43. Sujeción y administración intramuscular en rata.....	77
Figura 44. Músculos superficiales del conejo.....	78
Figura 45. Sujeción del conejo.....	79

Figura 46. Sujeción y localización de los músculos del conejo para la vía de administración intramuscular.	80
Figura 47. Administración intramuscular en conejos.	81
Figura 48. Corte del tapón de la aguja hipodérmica.	82
Figura 49. Contenedores para ratón y rata.	83
Figura 50. Vía de administración intravenosa en ratón y rata.....	84
Figura 51. Vena marginal en conejos.....	85
Figura 52. Administración por vena marginal en el conejo.	86
Figura 53. Ingreso de la aguja a vena marginal.	87
Figura 54. Administración vía intraperitoneal en ratón y rata.....	89
Figura 55. Administración vía intraperitoneal en el cuadrante posterior izquierda y posterior derecha del ratón.	90
Figura 56. Administración vía intraperitoneal en la región posterior izquierda y posterior derecha de la rata.	91
Figura 57. Sujeción del conejo para levantarlo.....	92
Figura 58. Posición dorso ventral del conejo para la administración intraperitoneal.	93
Figura 59. Administración vía intraperitoneal en conejo.....	94
Figura 60. Sujeción de ratón y rata para la administración vía oral.	95
Figura 61. Medición de la sonda esofágica en ratón y rata.	96
Figura 62. Administración vía oral en ratón.....	97
Figura 63. Administración vía oral en rata.....	98
Figura 64. Localización de venas de la cara del ratón.....	113
Figura 65. Localización de la zona de punción de la vena mandibular.....	114

Figura 66. Punción de la vena mandibular en ratón y rata.	115
Figura 67. Obtención de sangre de la vena mandibular en ratón y rata.	116
Figura 68. Ingreso del ratón al cepo de contención.	118
Figura 69. Obtención de sangre de la base de la cola del ratón.	119
Figura 70. Punción de vena caudal distal en ratón.	121
Figura 71. Punción de vena caudal distal en rata.	122
Figura 72. Sujeción del conejo para toma de muestra sanguínea en vena marginal.	124
Figura 73. Ingreso de la aguja a la vena marginal.	125
Figura 74. Obtención de sangre por vena marginal del conejo	125
Figura 75. Tubos capilares.	126
Figura 76. Localización del seno venoso	127
Figura 77. Sujeción de la rata para exponer ojos	128
Figura 78. Toma de muestra del seno venoso en ratón.	129
Figura 79. Toma de muestra del seno venoso derecho de la rata.	130
Figura 80. Recolección de sangre del seno venoso de la rata.	131
Figura 81. Toma de muestra del seno venoso izquierdo de la rata.	132
Figura 82. Punción cardíaca en ratón.	134
Figura 83. Punción cardíaca en rata.	135
Figura 84. Obtención de sangre por punción cardíaca en rata.	136
Figura 85. Punción cardíaca en conejo.	138
Figura 86. Programa de manejo de RPBI.	152

CUADROS

Cuadro 1.SIGNOS DE DOLOR O MALESTAR EN RATONES	8
Cuadro 2.SIGNOS DE DOLOR O MOLESTAR EN RATAS	11
Cuadro 3.SIGNOS DE DOLOR O MALESTAR EN CONEJOS	14
Cuadro 4. VOLUMEN MÁXIMO ACEPTADO VÍAS DE ADMINISTRACIÓN	64
Cuadro 5.VÍAS PERMITIDAS PARA LA ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA.....	82
Cuadro 6.ANESTESIA EN RATONES	101
Cuadro 7.ANESTESIA INHALADA EN RATONES	102
Cuadro 8.ANESTESIA EN RATAS	103
Cuadro 9.PREANESTÉSICOS ANESTÉSICOS USADOS EN CONEJOS.....	105
Cuadro 10.DOSIS Y VÍAS DE ADMINISTRACIÓN	106
Cuadro 11. VOLUMEN CIRCULATORIO DE SANGRE Y RECUPERACIÓN	111
Cuadro 12.VOLUMEN TOTAL DE SANGRE	112
Cuadro 13.PROTOCOLO DE SUPERVISIÓN PARA ROEDORES.....	143
Cuadro 14.MÉTODOS ACEPTABLES DE EUTANASIA EN ROEDORES.....	145
Cuadro 15.MÉTODOS ACEPTABLES DE EUTANASIA EN CONEJOS	146
Cuadro 16.CARACTERÍSTICAS Y MODO DE ACCIÓN DE AGENTES PARA LA EUTANASIA	147
Cuadro 17.ENVASADO E IDENTIFICACIÓN DE LOS RESIDUOS	150