



GUÍA DE MANEJO Y CUIDADO DE ANIMALES DE LABORATORIO: RATÓN



Instituto Nacional de Salud
Jirón Cápac Yupanqui 1400, Lima 11, Perú
Apartado Postal 471, teléfono:(0511) 471-9920 Fax: (0511) 471-0779
Correo electrónico: revmedex@ins.gob.pe
Página web: www.ins.gob.pe



MINISTERIO DE SALUD DEL PERÚ

MINISTRO

Econ. Hernán Garrido Lecca Montañez

VICEMINISTRO

Dr. Elias Melitón Arce Rodríguez

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD

JEFA

Dra. Patricia García Funegra

SUBJEFE

Dr. Rubén Espinoza Carrillo

**CENTRO NACIONAL DE
SALUD PÚBLICA**

Director General
Dr. Luis Fuentes Tafur

**CENTRO NACIONAL DE
CONTROL DE CALIDAD**

Director General
Q. F. Rubén Tabuchi Matsumoto

**CENTRO NACIONAL DE
PRODUCTOS BIOLÓGICOS**

Director General
Dra. Silvia Pessah Eljay

**CENTRO NACIONAL DE
SALUD INTERCULTURAL**

Director General
Dr. Neptalí Cueva Maza

**CENTRO NACIONAL DE
ALIMENTACIÓN Y NUTRICIÓN**

Directora General
DMg. María Inés Sánchez-Griñán

**CENTRO NACIONAL DE SALUD
OCUPACIONAL Y PROTECCIÓN
DEL MEDIO AMBIENTE PARA LA SALUD**

Directora General
Dra. Elisa Vidurizaga Ramos

**COMITÉ EDITOR
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD**

PRESIDENTE

Dr. César Cabezas Sánchez

MIEMBROS

Dr. Pedro Álvarez Falconí	Dr. Claudio Lanata de las Casas
Q. F. Rosario Belleza Zamora	Mg. Mercedes Ochoa Alencastre
Dr. Zuño Burstein Alva	Mg. Graciela Rengifo García
Dra. Patricia Caballero Nopo	Blga. Silvia Seraylan Ormachea
Dr. Walter Curioso Vilchez	Dr. Javier Vargas Herrera
Dr. Manuel Espinoza Silva	Q. F. Diana Vergara Núñez
Dr. Percy Mayta Tristán	Blga. Ana Barrientos Tejada

ASISTENTE EDITORIAL

Mg. Carolina Tarquí Mamani

CORRECTOR DE ESTILO

Sr. Daniel Cárdenas Rojas



MINISTERIO DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD



GUÍA DE MANEJO Y CUIDADO DE ANIMALES DE LABORATORIO: RATÓN



Elaborado por:

Q. F. Flor de María Fuentes Paredes
Q. F. Rosa Amelia Mendoza Yanavilca
M.V. Arturo Lorenzo Rosales Fernández
M.V. Rosario Alberto Cisneros Tarmeño

Centro Nacional de Productos Biológicos
Instituto Nacional de Salud

LIMA, 2008

Catalogación hecha por el Centro de Información y Documentación Científica del INS

Instituto Nacional de Salud (Perú)
Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: ratón/ Elaborado por
Flor de María Fuentes Paredes; Rosa Amelia Mendoza Yanavilca; Arturo
Lorenzo Rosales Fernández y Rosario Alberto Cisneros Tarmeño. - Lima:
Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud, 2008.
52 p.: 20.5 x 14.5 cm.

1. ANIMALES DE LABORATORIO/ crecimiento y desarrollo 2. RATONES/
crecimiento y desarrollo 3. PERÚ

- I. Fuentes Paredes, Flor de María
- II. Mendoza Yanavilca, Rosa Amelia
- III. Rosales Fernández, Arturo Lorenzo
- IV. Cisneros Tarmeño, Rosario Alberto
- V. Instituto Nacional de Salud (Perú)
- VI. Perú. Ministerio de Salud

ISBN 978-9972-857-69-0

Hecho el Depósito Legal en la Biblioteca Nacional del Perú N°: 2008 - 06854

© Ministerio de Salud, 2008

Av. Salaverry cuadra 8 s/n, Jesús María, Lima, Perú

Teléfono: (511) 431-0410

Telefax: 01 – 3156600 anexo 2669

Página Web: www.minsa.gob.pe

© Instituto Nacional de Salud, 2008

Cápac Yupanqui 1400, Jesús María, Lima, Perú

Teléfono.: 471-9920 Fax: 471-0179

Correo electrónico: postmaster@ins.gob.pe

Página Web: www.ins.gob.pe

Publicación aprobada con Resolución Jefatural N.º 309-2008-J-OPE/INS

Se autoriza su reproducción total o parcial, siempre y cuando se cite la fuente

CONTENIDO

Presentación	5
CAPÍTULO I	
Marco teórico.....	7
1.1. El animal de laboratorio.....	7
1.2. El ratón, su taxonomía y uso como animal de laboratorio.	7
1.3. Cepa.....	8
1.4. Clasificación microbiológica.....	8
1.5. Características generales del ratón.....	11
1.6. Comportamiento del ratón.....	11
1.7. Sistema reproductivo.....	12
1.8. Adquisición de animales de laboratorio.....	13
1.9. Certificado de sanidad.....	13
1.10. Bioterio de producción.....	14
1.11. Bioterio de experimentación.....	14
1.12. Diseño de bioterio.....	14
1.13. Barreras sanitarias.....	15
1.14. Personal.....	16
1.15. Ética de la experimentación animal.....	19
CAPITULO II	23
El ratón, su microambiente y macroambiente.....	23
2.1. Microambiente.....	24
2.1.1. Caja o jaula.....	24
2.1.2. Recomendaciones de espacio.....	25
2.1.3. Lecho o cama.....	26
2.1.4. Agua de bebida.....	27
2.1.5. Alimento: dietas y requerimientos.....	27
2.2. Macroambiente.....	29
2.2.1. Aire y ventilación.....	29
2.2.2. Temperatura y humedad relativa.....	30
2.2.3. Intensidad de luz y tipo de iluminación.....	30
2.2.4. Ruido.....	30
2.2.5. Olor.....	31

CAPÍTULO III	33
Manejo y cuidado de los ratones	33
3.1. Cuarentena	33
3.2. Alimentación y manejo del alimento.....	33
3.3. Provisión de agua.	34
3.4. Manejo de lecho o cama.	35
3.5. Limpieza y sanitización.	36
3.6. Manejo de poblaciones y sistema de control.	38
3.7. Técnicas de manejo para ratones jóvenes y adultos.	39
3.7.1. Captura y traslado de jaula.	39
3.7.2. Sujeción con una mano.....	40
3.8. Técnicas de manejo para ratones lactantes.	42
3.9. Vías de administración.....	42
3.10. Técnica de eutanasia.	44
3.11. Atención médico-veterinaria.....	45
Glosario	46
Bibliografía.....	50

PRESENTACIÓN

El uso de animales de laboratorio en estudios de investigación biomédica y producción de reactivos biológicos en general, requiere que éstos sean los apropiados para que proporcionen la seguridad en los resultados esperados, para ello, es necesario contar con bioterios que brinden animales de calidad microbiológica y genéticamente definidos mantenidos bajo condiciones estandarizadas y de acuerdo con normas internacionales establecidas.

Esta Guía es una recopilación de muchas fuentes y busca contribuir con el conocimiento de aquellos aspectos considerados de importancia relacionados con las buenas prácticas del cuidado y manejo del animal de laboratorio (ratón); pretendiendo convertirse en un instrumento de referencia para el personal que trabaja en el bioterio, de producción y experimentación animal.

El bioterio del CNPB, con más de tres décadas de operatividad, viene contribuyendo con la producción de animales de laboratorio destinados a la investigación científica del país, a la docencia universitaria y a la investigación biomédica; recomendándose mejorar desde el punto de vista ético, la calidad de vida de los animales de laboratorio, de acuerdo con la *Declaración universal de los derechos de los animales* (UNESCO, 1989) y a la *Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio* (NRC, 1996).

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

El animal de laboratorio tiene que ser respetado como ser vivo, entender que padece necesidades y sufre dolor, por ley es obligación del personal que lo cuida, mantiene y utiliza (investigador), asegurar su bienestar y confort mientras viva.

1.1. EL ANIMAL DE LABORATORIO

El animal de laboratorio es aquel que:

- › Es engendrado y producido en condiciones controladas.
- › Mantenido en un entorno controlado.
- › Posee claros antecedentes genéticos y microbiológicos.
- › Existe una comprobación sistemática de estos antecedentes.

También es definido como cualquier especie animal que, mantenido bajo determinadas condiciones controladas es utilizado como instrumento de medida en experimentación científica, desarrollo tecnológico e innovación, pruebas de laboratorio y docencia, para la generación de datos, los cuales son utilizados como información. Ejemplo de estas especies son: el ratón, la rata, el hámster, el conejo, el perro, el mono etc.

1.2. EL RATÓN, SU TAXONOMÍA Y USO COMO ANIMAL DE LABORATORIO

TAXONOMÍA

Clase: Mammalia

Familia: Muridae

Género: Mus

Especie: *Mus musculus*.

Ventajas de su uso como animal de laboratorio:

- › De fácil cuidado y mantenimiento, por su pequeño tamaño.
- › Bajos costo de manutención.
- › Cepa definida.
- › Diversidad de características específicas que sirven como modelo.

- › Eficiencia reproductiva.
- › Por su vida relativamente corta es excelente para su uso en ensayos crónicos de toxicología, microbiología, virología, farmacología, etc.
- › Corto tiempo de generación.

Desventajas:

- › Dificultad en la recolección de material biológico.
- › Dificultad la administración de drogas.
- › Dificultad en las técnicas quirúrgicas.

Figura 1
Ratón albino



Fuente: Bioterio Central – CNPB del INS. 2007

1.3. CEPA

Población de una misma especie, descendiente de un mismo origen; conservada por medio de una serie de pasos o cultivos.

Ejemplos:

- › RATON BALB/c (*Mus musculus*)
- › RATON AKR (*Mus musculus*)
- › RATON ICR (*Mus musculus*)
- › RATON NIH (*Mus musculus*)

Todas estas cepas se usan ampliamente en estudios de toxicología, farmacología y en pruebas de seguridad.

1.4. CLASIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA

Los animales de laboratorio se clasifican de acuerdo a la presencia o ausencia de microorganismos patógenos. Los patógenos por controlar son parásitos, virus, bacterias y hongos.

Categoría I: animal haloxénico (tradicionalmente convencional).

Son animales mantenidos sin ningún proceso especial (instalaciones abiertas) tradicionalmente llamados convencionales. Deben estar libres de toda evidencia de enfermedades infecciosas, especialmente las transmisibles al hombre, tanto en el examen clínico como en el post mórtem. Se refiere a las siguientes entidades biológicas

- › Toda *Salmonella* y *Shigella*.
- › *Mycobacterium tuberculosis*.
- › *Yersinia pseudotuberculosis*.
- › *Leptospira spp.*
- › Dermatofitos.
- › *Sarcoptes scabiei*.
- › Virus de la coriomeningitis linfocitaria (LCM).

Categoría II: animal miroxénico.

Son comparables a los animales convencionales mantenidos bajo condiciones sanitarias estrictas y estándares. Albergan una fracción inoculada de microorganismos no patógenos tomados de la microbiota de un haloxénico; deben mantener o ser del mismo estatus de la Categoría I y además estar libres de:

- › *Listeria monocytogenes*.
- › *Bacillus piliformis (Clostridium piliformis)*.
- › Estadios intermedios de céstodos y de artrópodos parásitos obligados.
- › Especies determinadas demandan la ausencia de los virus: *Ectromelia* (ratón) y *Myxomatosis* (conejo).

Categoría III: animal gnotobiótico con microbiota definida

Son comparables a los animales derivados de cesárea (axénicos) a los que se les introduce voluntariamente especies microbianas conocidas. Deben ser del mismo estatus de la Categoría II y además estar libres de:

- › *Bordetella bronchiseptica*.
- › Toda *Pasteurella*.
- › Todas las *Coccidias (Eimerias spp)* y helmintos patógenos.

Además, especies determinadas demandan la ausencia de:

- › *Streptobacillus moniliformis* (ratones y ratas).
- › *Corynebacterium kutscheri* (*C. murium*) (ratones).
- › *Streptococcus pneumoniae* (cobayo y conejo).
- › Todas las especies de *Mycoplasma* (ratones y ratas).
- › *Treponema cuniculi* (sífilis del conejo/conejo)

Categoría IV: animal heteroxénico (libre de gérmenes patógenos, SPF)

Son comparables a los animales descritos como libres de gérmenes patógenos específicos (*Specific Pathogens Free*, SPF). Estos son derivados de un axénico o gnotobiótico que adquiere una microbiota proveniente de su medio, son mantenidos en zonas protegidas (sistemas cerrados). Deben ser del mismo estatus de la Categoría III y además estar libres de:

- › Estreptococos (excepto grupo D).
- › Neumococos.
- › Helmintos.
- › Protozoos patógenos.
- › Virus que afectan a estas especies.

Además, especies determinadas demandan la ausencia de:

- › Todas las especies de *Mycoplasma* (hamster y cobayo).
- › *Fusiformis necrophorus* (conejos).

Categoría V: animal axénico (libre de gérmenes, GF)

Son animales que no albergan ninguna especie microbiana viviente detectable. Son el resultado del uso de sistemas cerrados estériles y se encuentran libres de todo organismo demostrable (virus, bacterias, hongos, parásitos y organismos saprófitos). Se les conoce como animales *Germ Free* o axénicos, los cuales son derivados por histerotomía (cesárea) o histerectomía aséptica, criados y mantenidos en un aislador mediante técnicas gnotobióticas. Estos animales no siempre se obtienen en la práctica, debido a los agentes transmitidos verticalmente.

Este esquema de clasificación por categorías ha sido sujeto a revisiones regulares y a pesar de algunos cambios menores en cuanto al establecimiento y definición de las entidades microbianas (bacterias, hongos, parásitos

y virus) que deben o no estar presentes, según la categoría específica, ha resistido la prueba del tiempo.

1.5. CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL RATÓN

El ratón doméstico es una especie cosmopolita, se adapta a una gran variedad de condiciones ambientales, desde zonas muy frías hasta regiones tropicales. En general, las especies prefieren ambientes más secos que húmedos.

El ratón es un mamífero de sangre caliente, de hábitos nocturnos y su comportamiento está influenciado por feromonas. Posee un agudo sentido de la audición, por lo que se alteran rápidamente con los ruidos, es por ello que hay que tener cuidado con los equipos que se utilizan.

Su sentido del olfato está muy desarrollado, no sólo para detectar comida y depredadores, sino también para percibir un orden social.

Su visión es muy pobre y no pueden percibir los colores. En la órbita del ojo posee unas glándulas con forma de herradura llamadas glándulas Harderianas, cuando el ratón está en estrés, excreta en la zona periocular una sustancia de color marrón llamada porfirina.

El sistema social depende de la densidad de población, viven en grandes colonias y el rango social está bien desarrollado. Generalmente, son muy dóciles a excepción de algunas cepas exocriadas que mantienen su agresividad, al igual que sus antecesores salvajes.

Por su pequeño tamaño son muy susceptibles a cambios ambientales, puesto que una variación de la temperatura entre 2 a 3°C, puede afectar su temperatura corporal y modificar su fisiología.

El tamaño del ratón adulto varía entre 12 a 15 cm desde la punta de la nariz a la punta de la cola; el largo de la cola es igual al largo del cuerpo y con un peso aproximado de 30 gr. Las crías al nacer tienen un peso aproximado de 1 a 2 g y gana rápidamente peso durante la lactancia.

Tienen una vida útil de 10 a 12 meses y se obtiene de ocho a diez camadas.

1.6. COMPORTAMIENTO DEL RATÓN

El ratón es un animal sociable y se mantiene en grupos sin ningún inconveniente, estos grupos deben formarse rápidamente luego del destete.

Sin embargo, los machos de algunas cepas comienzan a mostrar su agresividad entre la séptima y décima semana de edad, aun cuando estos grupos se hayan establecido al destete. En el grupo de machos existe uno dominante que puede ser muy agresivo. Las hembras generalmente no pelean, incluso cuando se hayan agrupado siendo ya adultas.

El acto de comer es cíclico, con un pico máximo durante el periodo de oscuridad. El mayor consumo de agua es durante las horas de oscuridad. El consumo de alimento y agua varía entre las cepas de ratones.

El ratón generalmente divide su caja en áreas específicas para dormir, comer, orinar y defecar.

Las hembras parturientas construyen un nido y permanecen mucho tiempo cerca de él o sobre las crías.

1.7. SISTEMA REPRODUCTIVO

La hembra es poliéstrica continua. Tras el parto, a las 14 - 28 horas se produce un estro fértil, por lo que puede utilizarse el estro posparto. Hay que tener en cuenta que la lactancia y gestación simultáneas puede retrasar entre tres a cinco días la implantación del embrión.

Al nacer el ratón pesa entre uno y dos gramos, nacen con los ojos y oídos cerrados, sin pelos y son muy activos. Al tercer día comienza a observarse el desarrollo del pelaje, llegando a cubrirse totalmente desde los siete a diez días. A los 12 días empiezan abrir los ojos y el conducto auditivo externo, entre los días 13 y 14 inician a ingerir alimento sólido y agua del bebedero.

Generalmente se les desteta a los 21 días de edad con un peso de aproximadamente 11 a 14 gramos (bioterio central del CNPB/INS). Cuando no se ha utilizado el estro posparto, empiezan a ciclar a los cinco días postdestete. El ciclo estral tiene una duración de cuatro a cinco días, en tanto que el celo dura 12 horas.

Las hembras reproductoras pueden convivir en apareamientos monogámicos o poligámicos (de harén). Los apareamientos monogámicos consisten en el aislamiento de un macho y una hembra a lo largo de su vida reproductiva, equivalente a un año o a una cantidad de partos que oscila entre los cinco y los ocho. La pareja de reproductores va a permanecer junta procreando, con un promedio de ocho a diez crías por camada.

En el caso de los apareamientos poligámicos, un macho es confinado

junto con un número superior de hembras para incrementar la reproducción.

Las poblaciones endocriadas se obtienen por el cruzamiento de hermanos con hermanas luego de 20 generaciones como mínimo.

Las poblaciones de animales exocriados se obtienen apareando individuos no aparentados entre sí y se les denomina *stock*.

Figura 2

Pareja de ratones con crías
(sistema reproductivo monogámico)



Fuente: Bioterio Central – CNPB del INS. 2007

1.8. ADQUISICIÓN DE ANIMALES DE LABORATORIO

La importación de animales de laboratorio deberá cumplir los requisitos zoo-sanitarios del Servicio Nacional de Sanidad Animal (SENASA) del Perú.

La elección del animal del laboratorio debe cumplir las exigencias de la investigación biomédica y reunir los requisitos genéticos y microbiológicos.

1.9. CERTIFICADO DE SANIDAD

Documento que acredita la calidad sanitaria de los animales, producidos o adquiridos, mediante estudios adecuados que certifiquen la ausencia de enfermedades que puedan interferir con los resultados experimentales.

Todos los animales adquiridos por compra o donación y que serán utilizados como animal de laboratorio, deben ir acompañados de este documento que certifica las condiciones de salud y calidad en que se produjeron, criaron y mantuvieron hasta antes de su salida del lugar de origen.

1.10. BIOTERIO DE PRODUCCIÓN

Estructura física y organizacional especialmente diseñada para la cría y mantenimiento de animales de laboratorio. De ubicación exclusiva, fuera del alcance de peligros sanitarios. El objetivo principal de tener un bioterio es asegurar la procedencia de animales sanos para que no interfieran en los trabajos científicos de las diferentes áreas de investigación, fabricación de vacunas, antígenos y su control.

Los determinantes de un bioterio para un buen desempeño son:

- › Aspecto de infraestructura.
- › Animales definidos.
- › Personal capacitado.

Figura 3

Distribución de ratones en sala de producción



Fuente: Bioterio Central – CNPB del INS. 2007

1.11. BIOTERIO DE EXPERIMENTACIÓN

Destinado solamente para alojar animales durante el tiempo que dure un estudio o una investigación. Se debe tener en cuenta que existan instalaciones con barreras sanitarias establecidas para la protección de las personas así como de los animales, con el equipamiento necesario y los procedimientos normativos operacionales correspondientes para dichos fines.

1.12. DISEÑO DE UN BIOTERIO

Un elemento importante para el cuidado y uso de animales, son las ins-

talaciones diseñadas construidas y mantenidas apropiadamente, además, que faciliten una operación segura, eficiente y económica.

Para el diseño de un bioterio se tendrá presente:

- › Actividades por realizarse.
- › Relación de estas actividades con el espacio y con las necesidades ambientales.

Los bioterios deben estar contruidos con paredes y pisos recubiertos por material de fácil lavado, resistente a la aplicación de desinfectantes; techos lisos, uniformes, fáciles de limpiar y con bordes sanitarios; cierres herméticos en las puertas y con factores controlados, entre ellos, los ambientales (temperatura, humedad, ventilación, presurización) y físico-químicos (iluminación, ruido, sanitizantes, etc.).

Las instalaciones deberán contar con condiciones físicas y de diseño, que aseguren la eficacia de su funcionamiento ya que los animales de laboratorio requieren satisfacer los fines de la investigación, y es por ello que deberán estar ubicados en áreas apropiadamente adecuadas, para alojarlos y cuidarlos.

Existe dos tipos de distribución interna de las áreas, según la *American Association for Laboratory Animal Science* (AALAS) y la diferencia entre ellas radica en la disposición del acceso y salida de las salas.

Bioterio convencional o de corredor único: el tránsito es mediante una única puerta, la cual comunica hacia un corredor común de acceso y salida.

Bioterio con dos corredores de acceso: en donde se separan el acceso y retorno de la sala, los cuales se efectúan por corredores independientes, diseñado para albergar animales de mayor calidad. Se separan dos áreas básicas, una destinada a la preparación del material y el otro es el corredor de retorno destinada a la limpieza de materiales.

1.13. BARRERAS SANITARIAS

Sistema que combina instalaciones físicas, equipamiento y procedimientos operacionales, que separan una zona limpia de una zona sucia o de un lugar menos limpio de otra más limpia, minimizando la probabilidad de que organismos patógenos se pongan en contacto con la población animal del bioterio.

Ejemplo de barreras sanitarias:

- › Instalaciones físicas: esclusas, vestidores, con presión diferencial de aire, renovación de aire/hora, filtración y tratamiento de agua.
- › Equipamiento: implementos de protección personal, como vestimenta, mascarilla, gorro y guantes. Uso de pediluvios con desinfectante de una sala a otra sala, barreras antiroedores y antiinsectos.
- › Procedimientos operacionales; de ingreso de personal, de materiales, de limpieza y desinfección de ambientes y de materiales.

1.14. PERSONAL

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

1.14.1. NORMAS DE SEGURIDAD Y PROTECCIÓN DEL PERSONAL

El personal debe adoptar normas y formas de protección, para brindar buenas condiciones de mantenimiento y salud a los ratones. Para ello deberá contar con procedimientos e instrucciones normalizados como:

- › Procedimiento de higiene de personal.
- › Uso de la vestimenta completa.
- › Procedimiento de ingreso al bioterio de producción o bioterio de experimentación.
- › Procedimientos de limpieza de ambientes, con programas de limpieza y rotación de desinfectantes, efectivo.
- › Procedimientos de limpieza y desinfección de materiales.
- › Procedimiento de eliminación de desechos.
- › Programa de control de plagas.
- › Programa de capacitación al personal.
- › Flujo de personal y materiales por las zonas indicadas, para evitar

diseminación de material contaminado en zonas limpias.

Entre las normas de higiene y de seguridad más importantes tenemos:

- › Uso de una vestimenta completa y de uso exclusivo en el bioterio.
- › Todo animal encontrado en la sala, libre, debe ser eliminado y no devuelto a la colonia.
- › Se debe trabajar con el menor ruido posible y en forma de reducir el estrés ocasionado a los animales.
- › Uso de gafas de seguridad cuando el procedimiento de investigación lo requiera.
- › Tener conocimiento de la localización del botiquín de primeros auxilios y rutas de evacuación ante una emergencia
- › Utilizar guantes quirúrgicos para el manejo de los animales.
- › No llevar nada a la boca mientras se esté en el bioterio.
- › Mantener el área limpia.
- › Uso de equipos en buenas condiciones.
- › Eliminación de desechos en la forma correcta. Uso de bolsas rojas para material biológico contaminado y bolsas de color negro para material sucio o desechos no contaminados.
- › Rotular correctamente las jaulas, especialmente en las salas de reproductores monogámicos.
- › Restringir el acceso a personal extraño, permitir sólo el acceso a personas autorizadas.
- › Informar inmediatamente al jefe o coordinador, cualquier accidente.
- › Si tiene problemas respiratorios (asma), neurológicos o alergias infórmelo por escrito a su jefe inmediato.
- › No debe permitirse al personal comer, beber, fumar o aplicarse cosméticos en las salas de animales.

El uso de los elementos de protección del personal (mascarilla, guantes, gorros, etc.), los procedimientos normalizados de limpieza y desinfección de materiales e instalaciones conjuntamente con los flujos adecuados

de personal y material, constituyen una verdadera barrera sanitaria, que se recomienda mantenerla vigente a pesar de las limitaciones en equipamiento e infraestructura.

Figura 4

Uso adecuado de vestimenta en bioterio



Fuente: Bioterio Central – CNPB del INS. 2007

1.14.2. EVALUACIÓN MÉDICA Y MEDICINA PREVENTIVA PARA EL PERSONAL

Se recomienda elaborar una historia clínica y la realización de evaluaciones médicas periódicas, debiendo implementarse un plan de inmunización contra el tétano, para personal que cuida de los animales.

Asimismo, deberá realizarse vigilancia microbiológica, como análisis nasofaríngeos y análisis de heces (dos veces por año).

1.14.3. SEGURIDAD E IDENTIFICACIÓN DE PELIGROS

El personal debe identificar y evaluar los peligros y riesgos que son propios cuando se trabaja con ratones (mordidas, alérgenos y zoonosis) y de los materiales utilizados en el bioterio de producción (agentes químicos de limpieza y biológicos peligrosos) en la

intensidad de la exposición, su duración y frecuencia de uso.

1.14.4. CAPACITACIÓN DEL PERSONAL

El personal debe estar capacitado en:

- › Identificar las principales enfermedades zoonóticas que afectan a los animales de laboratorio.
- › Manejo de animales de laboratorio, según las buenas prácticas de crianza.
- › Peligros microbiológicos y físicos (incluyendo aquellos relacionados con la radiación y las alergias).
- › Limpieza y sanitización de ambientes y materiales.
- › Higiene personal.
- › Salud y seguridad ocupacional.
- › Manejo de materiales de desecho.
- › Seguridad química e industrial.
- › Manejo de equipos utilizados en la producción: autoclaves, hornos, caldero, ablandador de agua, cabinas de seguridad biológica y otros.

Deberán implementarse programas de capacitación continua.

1.14.5. HIGIENE PERSONAL

El personal debe mantenerse limpio, utilizando ropa apropiada dentro de los ambientes del bioterio de producción o de experimentación, deberá lavarse las manos y cambiarse de ropa con la frecuencia necesaria para mantener la higiene personal. Esta ropa no debe utilizarse fuera de las instalaciones.

En los bioterios el personal no debe beber, fumar o aplicarse cosméticos.

1.15 ÉTICA DE LA EXPERIMENTACIÓN ANIMAL

El tema ético compete a todos los individuos pero, con mayor razón, a los involucrados en la investigación biológica, desde el auxiliar a cargo de los animales hasta el directivo de la institución productora o usuaria.

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

Siempre que se usen animales en investigación, se debe considerar que un objetivo tan importante como el de obtener resultados experimentales, será el de minimizar cualquier dolor o angustia que dichos animales puedan sufrir. El refinamiento de los procedimientos para conseguir que estos no causen sufrimiento debe ser parte integrante de toda investigación científica. Esto es importante tanto desde el punto de vista de la preocupación humanitaria como para cumplir con los requisitos de la legislación sobre animales de investigación.

Los investigadores que trabajen y experimenten con animales están moralmente obligados a manifestarles tres tipos de actitudes: *respeto*, *afecto* y *gratitud*.

- › **Respeto:** por tratarse de seres vivos y sensibles, que están experimentando sufrimiento y podrían terminar perdiendo la vida, tratárseles con todas las consideraciones que el caso merece.
- › **Afecto:** considerándolos partícipes con nosotros, del misterio de la vida.
- › **Gratitud:** reconocimiento por la importante ayuda al constituirse nuestros más íntimos colaboradores.

Así mismo, se puede decir que la investigación biomédica en animales es éticamente aceptable, si se sigue el principio de las tres R de la experimentación humanizada para con los animales, propuesta por William Russell (zoólogo y psicólogo) y Rex Burch (microbiólogo) en 1959: *Reducir*, *Reemplazar* y *Refinar*.

- › **Reducir**, al máximo el número de ellos y, por ende, el total de animales utilizados en investigación.
- › **Reemplazar**, siempre que sea posible el animal de experimentación por otro modelo experimental, cuando no resulte imprescindible el uso de animales.
- › **Refinar**, los métodos y técnicas utilizados de modo que produzcan al animal el menor sufrimiento posible.

Muchos laboratorios experimentales han adoptado estos principios éticos. Igualmente, se cuenta con abundante bibliografía sobre el tema. Y por

último, cursos y textos que comprenden la formación en las ciencias de los animales de laboratorio, incluyen las pertinentes lecciones sobre la ética en el manejo y la utilización de los animales de laboratorio.

En la práctica, el cuidado de los animales de laboratorio recae en varias personas, pero legalmente y dependiendo de las leyes del país donde se lleve a cabo el estudio, la responsabilidad final con frecuencia recae en el investigador principal que esté realizando el procedimiento científico.

*“La cuestión no es si los animales pueden razonar ni tampoco si pueden hablar, sino ¿pueden sufrir?”
(Jeremy Bentham, 1780).*

CAPÍTULO II

EL RATÓN: SU MICROAMBIENTE Y MACROAMBIENTE

Figura 5



Fuente: www.harlan.com/models/balbc.asp

El investigador podrá decidir, de acuerdo con sus necesidades, dónde ubicar a los animales empleados, teniendo en cuenta que el lugar brinde las condiciones ambientales y de manejo óptimas que aseguren la salud y la comodidad de especímenes, de modo que sus patrones metabólicos y de comportamiento se mantengan normales y estables, dando respuestas confiables.

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

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

2.1. MICROAMBIENTE

El microambiente, es el ambiente físico inmediato que rodea al ratón, también llamado confinamiento o encierro primario, esta limitado por el perímetro de la jaula o caja, cama, alimento y agua de bebida; deben contribuir a la salud de los animales, y evitarles todo estrés, por lo que deberá asignársele, a cada uno, un espacio adecuado que le permita movimientos y adopciones de posturas normales, preservando a su vez las mínimas condiciones de higiene y de protección contra insectos, roedores y otras plagas.

El microambiente lo conforman la caja o jaula, el alimento, el agua, así como el mantenimiento de las condiciones de higiene de cada uno de ellos (capítulo de cuidado y mantenimiento).

2.1.1. CAJA O JAULA

Los ratones se alojan en cajas o jaulas especialmente diseñadas para facilitar su bienestar, pueden ser de metal o de plástico (polipropileno, policarbonato, poliestireno y polysulfano), provistas de tapas de acero inoxidable con o sin filtro.

El poliestireno es transparente y resiste al autoclavado y a la mayoría de desinfectantes. El poliestireno y el polipropileno no resisten temperatura elevadas.

La altura de las paredes de la caja no debe ser menor de 12,7 cm.

Debe tener las siguientes características:

- Proporcionar espacio adecuado, ser cerrado, seguro y protegerlo de las amenazas externas.
- Ser adecuado en ventilación.
- Ser resistente al lavado, desinfección y esterilización frecuente.
- Permitir la observación del animal.
- Tener pisos y paredes fáciles de limpiar (superficies lisa) y con tapa removible de rejillas o perforada.
- Mantenerse en buenas condiciones de uso.
- Facilitar el acceso de los animales al agua y alimento.
- No presentar bordes cortantes o proyecciones que puedan causar lesiones.

2.1.2. RECOMENDACIONES DE ESPACIO (DENSIDAD ANIMAL)

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

El tamaño de las jaulas o cajas debe ser apropiado; por ejemplo, en el caso de ratones adultos, se requiere una superficie mínima de 80 cm² por animal.

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

En la siguiente tabla se muestra las recomendaciones del espacio asignado a roedores alojados en grupos; si se alojan individualmente o exceden los pesos listados, podrían requerir de más espacio, de acuerdo con el criterio profesional y de experiencia.

TABLA 1
Espacios recomendados para ratones de laboratorio

Peso en gramos	Área del piso por animal en cm ²	Altura cm
Menor de 10	38,71	12,7
10-15	51,61	12,7
15-25	77,42	12,7
Mayor a 25	96,77	12,7

Figura 6

Jaula con la densidad adecuada de ratones



Fuente: Bioterio Central – CNPB del INS, 2007

2.1.3. LECHO O CAMA

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

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

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

- › No ser nocivo.
- › Capacidad de absorción
- › No se recomienda el uso de viruta procedente de cedro o caoba.

Figura 7

Lecho o cama de viruta de madera estéril



Fuente: Bioterio Central – CNPB del INS. 2007

2.1.4. AGUA DE BEBIDA

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

2.1.5. ALIMENTO: DIETAS Y REQUERIMIENTOS

El alimento es el material primario a partir del cual se van a formar y renovar los tejidos y estructuras corporales, tanto las nuevas como las ya existentes, que deben ser reemplazadas debido al proceso de desgaste. La nutrición es determinante en los estados sucesivos de crecimiento y producción de los animales, de ahí que haya alimentos específicos para cada especie y hasta para cada etapa de su vida.

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

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

- Composición, que deberá cubrir las necesidades de crecimiento, gestación, lactancia y mantenimiento del ratón.
- Debe ser agradable al paladar (palatable) y digestible.

- › Tener fecha de elaboración y caducidad.
- › Certificado de análisis químico proximal y microbiológico por cada lote.
- › Estar libre de harina de pescado, aditivos, drogas, hormonas, antibióticos, pesticidas y contaminantes patógenos.
- › El alimento en forma de pellet debe tener la consistencia requerida, para evitar pérdida del alimento y el animal pueda consumirlo.

Figura 8

Jaula con la densidad adecuada de ratones



Fuente: Bioterio Central – CNPB del INS. 2007

TABLA 2

Composición química de una dieta estándar

Componente	Porcentaje
Proteína cruda	20
Grasa cruda	9,81
Fibra cruda	2,15
Cenizas	6,38
Consumo diario de alimento	3-6 g
Consumo diario de agua	3-7mL

Fuente: EL RATÓN, OPS

Figura 9
Distribución de alimento y agua de bebida



Fuente: Bioterio Central – CNPB del INS. 2007

2.2. MACROAMBIENTE

El macroambiente es el espacio inmediato al microambiente y es la sala de alojamiento en su ámbito general.

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

2.2.1. AIRE Y VENTILACIÓN

Los ambientes destinados a la producción de animales, en su interior, deben poseer ventilación con presión positiva de aire respecto a los pasillos o áreas exteriores, manteniendo las gradientes de presión, de tal forma que se evita el ingreso de patógenos desde el exterior.

En caso de poseer un bioterio de doble pasillo con locales centrales (circulación limpia y sucia), la gradiente de presión será del limpio hacia el sucio.

La ventilación es importante para controlar la humedad, calor, gases tóxicos. Se debe generar entre 15 a 20 recambios de aire / hora.

Los sistemas de aire acondicionado o ventilación no podrán ser compartidos con otras áreas, serán exclusivos para el sector bioterio y con factores controlados de temperatura y humedad.

2.2.2. TEMPERATURA Y HUMEDAD RELATIVA

Las exigencias de temperatura para ratones son de 20 a 25 °C y la humedad relativa ambiental entre 40 y 70%.

Las condiciones ambientales en que se crían y experimentan los animales influyen decisivamente en las respuestas a los diferentes tratamientos. Si se requiere respuestas estandarizadas, las condiciones en que se mantienen los animales deben ser fijas.

2.2.3. INTENSIDAD DE LUZ Y TIPO DE ILUMINACIÓN

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

La iluminación debe distribuirse adecuadamente a través de la sala de alojamiento y ser lo suficiente para las prácticas de mantenimiento, inspección y bienestar de estos, sin causarles signos clínicos a los animales. También debe proporcionar condiciones seguras de trabajo para el personal.

La iluminación es importante para la regulación del ciclo estral y reproductivo. Se recomienda 12 horas luz/12 horas oscuridad, lo cual se programa con un reloj temporizador.

2.2.4. RUIDO

Los ratones son muy sensibles al ruido y pueden percibir frecuencias de sonido que son inaudibles para el ser humano, por lo que el personal debe tratar de minimizar la generación de ruido innecesario. El ruido excesivo e intermitente se puede minimizar capacitando al personal en modos alternativos a las prácticas que producen ruido. Los radios, celulares, alarmas y otros generadores de sonido, aun con auriculares o audífonos, no deben usarse en las salas de alojamiento de animales. Se permite un nivel máximo de ruido de 85 decibeles, si estos son mayores tiene efectos nocivos como estrés y problemas de fertilidad.

2.2.5 OLOR

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

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

Por ejemplo, se conoce que el hombre es capaz de percibir 100 ppm de amoníaco del ambiente del ratón y éste puede percibir desde 25 ppm de amoníaco.

CAPÍTULO III

MANEJO Y CUIDADO DE RATONES

El mantenimiento de los animales en buen estado de salud, depende en mayor parte de que el personal adopte ciertas normas y formas de trabajo para mantener las barreras sanitarias con continuidad en el tiempo.

Un buen programa de cuidado y manejo ofrece el ambiente y alimentación que permite a los animales crecer, reproducirse y mantener una buena salud.

Para elaborar estos programas se debe considerar los siguientes factores:

- › Las especies y cepas.
- › La habilidad del animal para integrar grupos.
- › Disponibilidad de la instalación y equipamiento.
- › Periodo de permanencia de los animales.

Este capítulo incluye desde el ingreso del ratón al bioterio hasta su muerte. Características de manejo:

- › **Bueno**, cuando los ratones se acercan a la persona
- › **Regular**, cuando manifiestan timidez
- › **Malo**, cuando el ratón se asusta y trata de esconderse

3.1. CUARENTENA

El ratón tiene que pasar por un tiempo de adaptación (cuarentena), desde su adquisición hasta su uso, con el objetivo de tener ratones menos estresados y más sanos, que proporcionen un mejor resultado experimental. Este periodo no es menor de 15 días.

Todos los días se observaran a los ratones, para detectar cambios de comportamiento, enfermedades, heridas o muerte.

3.2. ALIMENTACIÓN Y MANEJO DEL ALIMENTO

Los animales deben recibir alimento en cantidad y calidad suficiente para sus necesidades y para conservar la salud. El acceso al alimento debe

ser libre y dosificado de acuerdo con los requerimientos, así cuando los animales se albergan en grupos, debe haber suficientes puntos de alimentación para minimizar la competencia por el alimento y asegurar que todos los ratones tengan acceso al alimento.

El alimento se suministra diariamente; se incrementará los días que se considere necesario por razones de fuerza mayor.

Cada ingreso de alimento debe ser registrado, de tal manera que el alimento de ingreso más antiguo se use primero, nunca utilizar alimento vencido. Los sacos de alimento abiertos deben almacenarse en contenedores totalmente cerrados.

Cada lote de ingreso se debe controlar la calidad: análisis bromatológico y su carga microbiana.

El alimento debe almacenarse en cuartos o almacenes desinfectados, secos y ventilados, aislado del piso, sobre parihuelas de preferencia de plástico.

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

Los contenedores de alimento no deberán moverse a diferentes salas y deberán lavarse y sanearse regularmente.

Si el alimento es autoclavado este requiere de una reformulación en la concentración de nutrientes, tipos de ingredientes y métodos de preparación para compensar la degradación sufrida durante la esterilización. Debe considerarse el irradiar el alimento como una opción frente al autoclavado.

3.3. PROVISIÓN DE AGUA

Debe ser renovada en forma total, diariamente o cada dos días, eliminando todo contenido residual del frasco de bebida.

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

Se recomienda la vigilancia microbiológica de manera periódica, para asegurar que la calidad del agua sea aceptable y no influya en los resultados experimentales.

Así mismo, se deberá describir el proceso de tratamiento o purificación del agua.

3.4. MANEJO DE LECHO O CAMA

El material del lecho o cama seleccionado, deberá transportarse y almacenarse en sacos o envases de plástico, cerrados aislados del piso, sobre parihuelas, de modo que permita mantener la calidad y evitar la contaminación.

Tener cuidado durante la esterilización que se realiza por autoclavado, la viruta puede absorber humedad, perdiendo su absorbancia y ser susceptible al crecimiento de microorganismos, por ello debe usarse tiempos apropiados de secado y buenas condiciones de almacenamiento.

Debe usarse en cantidades suficientes para mantener a los animales secos entre cada cambio.

Se debe tener procedimientos para la eliminación de las camas potencialmente contaminadas.

Se deberá establecer procedimientos para controlar la calidad del lecho, como la determinación de contaminantes.

Figura 10

Manejo de lecho o cama



Fuente: Bioterio Central – CNPB del INS. 2007

3.5. LIMPIEZA Y SANITIZACIÓN

3.5.1. ELIMINACIÓN DE DESECHOS

El área de eliminación de desechos debe proveer espacio para el almacenaje apropiado de material relacionado con los animales, excrementos, camas sucias, cadáveres, materiales peligrosos, etc. Los desechos colocados fuera de las instalaciones se deben mantener en recipientes cerrados herméticamente.

Se debe tener normado el manejo, almacenamiento, método y frecuencia de eliminación de desechos.

3.5.2. LIMPIEZA Y SANITIZACIÓN DE ÁREAS (ALOJAMIENTOS SECUNDARIOS).

Los materiales y utensilios de limpieza deberán ser exclusivos de cada una de las salas y mantenerse en buenas condiciones de uso, para evitar que actúen como vectores de microorganismos. Estos materiales son: el balde, los trapeadores, los jaladores de agua, la esponja de metal, la espátula ancha, las bolsas de residuo y el detergente.

No se debe usar desinfectantes con olores fuertes y mucho menos desodorantes de ambiente. El bioterio deberá implementar un programa de limpieza en la que se determinará la frecuencia de limpieza de las salas y los pasillos además del tipo de desinfectante por usar, señalando la metodología (manual o automático).

Se recomienda realizar la limpieza total (radical), empleando detergente para la superficie del piso, ya que este remueve y desprende toda grasa que impida la acción del desinfectante.

Figura 11

Limpieza y sanitización de sala



Fuente: Bioterio Central – CNPB del INS. 2007

3.5.3. LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DE MATERIALES (ALOJAMIENTOS PRIMARIOS)

3.5.3.1. LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DE JAULAS

Cambiar el material del lecho dos a tres veces por semana, para evitar concentraciones altas de amoníaco que son perjudiciales para los animales, esta frecuencia también depende del tamaño, cantidad de ratones albergados y de la ventilación del ambiente. Se recomienda tener un orden como empezar por la primera jaula de izquierda a derecha y de arriba hacia abajo. Usar ese orden para cambiar el lecho, dar la comida y el agua. De esa forma se evita que por distracción, alguna jaula quede sin cambiar o sin alimento o agua.

En cada cambio de lecho, lavar las jaulas utilizando detergente, esponja o escobilla, luego desinfectar con soluciones como:

Tego 2000 1 mL	Benzalconio5 mL
Agua c.s.p. 100 mL	Agua c.s.p.....100 mL
Hipoclorito al 0,5% fijarse en la concentración comercial si es 5 ó 5,25%:	

Hipoclorito de sodio 5%.....	10mL
Agua c.s.p.....	100 mL
Hipoclorito de sodio 5,25%.....	9,5 mL
Agua c.s.p.....	100 mL

Si el material de la jaula es autoclavable, se puede esterilizar la jaula.

3.5.3.2. LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DE FRASCOS BEBEDEROS

Los frascos bebederos serán lavados y desinfectados cada vez que se suministre agua de bebida.

Se lavarán con agua, escobilla y detergente toda la superficie interna del frasco, igual proceder con los goteros para lo cual se usa un cepillo especial. Luego, desinfectar con agua caliente o con algún desinfectante como hipoclorito de sodio sumergiendo el bebedero durante una hora.

3.6. MANEJO DE POBLACIONES Y SISTEMA DE CONTROL (FICHAS, REGISTROS, ETC.)

Toda operación en un bioterio debe tener registros para el control de las poblaciones, programas de producción, y su fácil identificación, ya sean colonias de producción o animales en experimentación.

Estos registros incluyen:

Tarjetas de jaula y fichas clínicas, se colocan en las jaulas o cajas y los datos que contienen corresponden a la identificación de los ratones que se encuentran en su interior, esos datos son:

- › Procedencia.
- › Fecha de ingreso de los animales.
- › Fecha de traslado de sala.
- › Controles realizados.
- › Método de reproducción.
- › Inoculaciones
- › Operario y responsable del proyecto de investigación

Asimismo, se debe llevar un registro de todos los experimentos efectuados con animales de modo que facilite la inspección, en dicho registro se incluirá información sobre los diversos procedimientos realizados y los resultados de los exámenes post mórtem que se practiquen.

Se llevará también, registros de control de temperatura y humedad relativa de los ambientes, así como registros limpieza y desinfección ordinaria y radical.

Figura 12

Sistema de identificación de jaulas en sala de producción (tarjetas)



Fuente: Bioterio Central – CNPB del INS. 2007

Figura 13

Sistema de identificación por niveles en racks



Fuente: Bioterio Central – CNPB del INS. 2007

3.7. TÉCNICAS DE MANEJO PARA RATONES JÓVENES Y ADULTOS

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

3.7.1. CAPTURA Y TRASLADO DE JAULA: SE REALIZA SUJETANDO EL ESPECÍMEN POR LA COLA.

Para el traslado de ratones generalmente se sujetan de la región media de la cola con los dedos índice y pulgar. Otra forma es abrazándolo del cuello con el dedo índice y el pulgar.

Figura 14

Captura y traslado de ratones (cambio de jaula)



Fuente: Bioterio Central – CNPB del INS. 2007

3.7.2. SUJECIÓN CON UNA MANO (MANO IZQUIERDA)

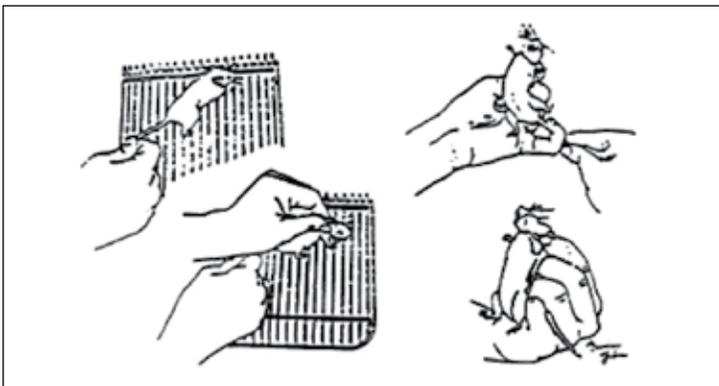
- › Saque el ratón de la jaula tomándolo de la zona media de la cola, y apóyelo (sin soltarlo) sobre una superficie rugosa o rejilla contra la que pueda ejercer resistencia.
- › Coloque la base de la cola del ratón entre sus dedos anular y meñique, dejando libre sus dedos pulgar e índice
- › Con rapidez pellizque con el dedo pulgar e índice, suave pero firmemente, la piel de la parte superior de cuello y hombros, teniendo especial cuidado con los ratones agresivos ya que pueden darse vuelta y morder.
- › Levante al animal

Figura 15
Sujeción con mano izquierda



Fuente: Bioterio Central – CNPB del INS. 2007

Figura 16
Sujeción con ayuda de rejilla



Fuente: <http://www.cinvestav.mx/upeal/PI-11-02.html>

3.8. TÉCNICAS DE MANEJO PARA RATONES LACTANTES

La manipulación de los recién nacidos debe hacerse rigurosamente con guantes y de manera suave y tranquila, cogerlos uno a uno o en pequeños grupos y posarlos cuidadosamente entre la palma y los dedos de la mano extendidos y juntos; devolver la camada lo más pronto posible, evitando que la madre se dé cuenta.

3.9. VÍAS DE ADMINISTRACIÓN

3.9.1. INYECCIONES E INOCULACIONES

Se considera apropiada la sujeción con una mano.

3.9.2. VÍA ORAL

Se puede usar el alimento o el agua, en volumen máximo de 1mL de solución por cada 100 g de peso del animal, cuando es vehículo oleoso y 2mL de solución cuando es solución acuosa; lo ideal es mediante sonda orogástrica y teniendo un buen conocimiento de la anatomía de la zona orofaríngea, los pasos a seguir son los siguientes:

Inmovilizar al animal en forma correcta e introducir la sonda hacia la izquierda en forma lenta y suave a lo largo de la rama mandibular derecha, aquí el ratón comienza a tragar y la sonda se inserta dentro del esófago.

3.9.3. VÍA SUBCUTÁNEA

Esta vía es utilizada como alternativa a la intramuscular, en los ratones.

Se prefieren los sitios en que abunde tejido conjuntivo, en el dorso a nivel del cuello o los flancos. La aguja se inserta en la piel paralela a la columna vertebral

Se utiliza agujas de 25 a 27 G, $\frac{1}{2}$ a $\frac{3}{4}$ pulgada con jeringas de tuberculina.

Y el volumen para un ratón adulto será de 2 a 3 mL.

3.9.4. VÍA INTRAPERITONEAL

Se usa jeringas y aguja calibre 25 –27 G . ½ a 1 pulgada, de bisel pequeño.

Aplicando la sujeción con una mano e inmovilizando la pata izquierda del ratón, con una inclinación hacia craneal para producir un desplazamiento de las vísceras con el fin de no lesionarlas.

Se inserta la aguja en la piel en el cuadrante izquierdo inferior del abdomen, luego se lleva hacia craneal y se introduce en la cavidad peritoneal, levantando la aguja en contra de la pared abdominal para evitar la punción en el interior del intestino; la jeringa con aguja debe estar paralela a la columna vertebral. Se puede administrar hasta 3 mL.

Una rápida administración del fluido puede causar daños en el tejido y hemorragia debido a la presión interna.

Figura 17

Aplicación por vía intraperitoneal



Fuente: Bioterio Central – CNPB del INS. 2007

3.9.5. VÍA INTRAVENOSA

Se utiliza agujas de 27 - 30 G y jeringas tuberculina de 1 mL.

Teniendo el ratón inmovilizado dentro de un cepo (sujetador para ratón), se utilizan las venas laterales de la cola, estas se dilatan con alcohol o con calor.

El volumen a inocular es de 0,2 a 0,5 mL como máximo.

Mejores resultados se logran si la cola se introduce en agua caliente o el ratón es calentado en la jaula con una lámpara. Las venas se observan cuando la cola es levantada y girada lentamente en cualquier dirección.

No utilizar medicamentos con vehículo oleoso o sustancias irritantes.

3.9.6. VÍA INTRAMUSCULAR

Se realiza en la región antero-lateral del muslo con agujas de 26 a 30 G, ½ pulgada con jeringa de tuberculina. El volumen máximo es de 0,05mL. Esta vía no es muy usada debido a la poca masa muscular del ratón y al posible daño que se le puede causar a las estructuras vitales.

3.10. TÉCNICA DE EUTANASIA

Deberá elegirse un método que no cause sufrimiento al ratón.

Métodos químicos:

a) Agentes inhalatorios: gases anestésicos, gases no anestésicos.

b) Agentes no inhalatorios: tranquilizantes (curare y estricnina).

Para efectos de los agentes inhalatorios, los ratones son conducidos a cámaras que deben estar diseñadas adecuadamente, donde se distribuye el agente, asegurando la distribución uniforme del gas y la rápida exposición de los ratones a una concentración alta del agente.

Los ratones recién nacidos son más resistentes a la hipoxia y tardan más tiempo en morir; por ello hay que utilizar otros métodos.

Es importante seleccionar agentes que no sean desagradables al ser inhalados, porque algunos pueden ser irritantes y por ello estresantes.

Cuando se administren agentes inhalatorios hay que tomar precauciones de seguridad, utilizando un equipo adecuado de recogida de gases y se debe confirmar la muerte.

El más utilizado es el dióxido de carbono en concentraciones superiores a 60%, el dióxido de carbono (anhídrido carbónico) actúa como un agente anestésico y produce rápidamente la pérdida de conciencia (Green 1987). Es muy eficaz y humanitario para la eutanasia de la mayoría de los animales pequeños utilizándolo por encima del 70% de concentración.

3.11. ATENCIÓN MÉDICO-VETERINARIA

La atención médico-veterinaria es un aspecto de gran importancia dentro del programa de cuidado y uso de los animales. Una adecuada atención médico-veterinaria debe contener programas eficaces de:

- › Medicina preventiva.
- › Vigilancia, diagnóstico, tratamiento y control de enfermedades.
- › Manejo de enfermedades.
- › Evaluación de salud y bienestar animal.
- › Método de eutanasia.

El programa de atención veterinaria es responsabilidad del médico veterinario encargado, con experiencia en ciencia y medicina de los animales de laboratorio. Es su función el asesorar a investigadores y personal involucrado en el cuidado y uso de animales para asegurar una apropiada manipulación e inmovilización, sedación, anestesia, analgesia y eutanasia.

Por tanto, todo sistema de control, de vigilancia y de regulaciones que se establezca para la prevención de infecciones y para el control y mantenimiento del nivel higiénico-sanitario de los animales, es un aspecto fundamental y debe ser llevado a cabo con gran rigor técnico y de manera documentada.

GLOSARIO

- **AAALAC Internacional:** organización privada no gubernamental, que promueve el trato humanitario hacia los animales en las actividades científicas, mediante programas voluntarios de evaluación y acreditación. AAALAC International significa “Asociación Internacional para la Evaluación y Acreditación del Cuidado de Animales de Laboratorio” (*Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care International*).
- **AALAS:** *American Association for Laboratory Animal Science*.
- **Agentes biológicos:** cualquiera de los microorganismos de ciertas clasificaciones o cualquier sustancia toxica derivada de organismos vivos que pueden producir muerte o enfermedad en el hombre, animales o plantas en desarrollo
- **Agentes físicos:** objetos o infraestructuras inanimadas o estados de la materia capaces de producir cambios fisiológicos.
- **Agentes químicos:** sustancias que producen efectos letales, lesivos o irritantes.
- **Alojamiento primario o recinto primario:** generalmente una jaula, constituye los límites del ambiente inmediato del animal. Este debe permitir satisfacer las necesidades fisiológicas y de conducta del animal, permitiendo el acceso al agua y alimento y también brindar facilidades para el cambio, limpieza, etc.
- **Alojamiento secundario o recinto secundario:** todos los componentes de las instalaciones para animales, incluyendo salas de animales y espacios de apoyo (sala de almacenamiento, instalaciones, sala de lavado de jaulas, corredores y salas para cuarentena y procedimientos)
- **Área limpia:** áreas cerradas, con características especiales de limpieza y uso de sustancias desinfectantes. Tienen sistemas de suministros de aire, con diferencias de presión. Área que cuenta con un control definido del medio ambiente con respecto a la contaminación con partículas o microorganismos, con instalaciones construidas y usadas de tal manera que se reduzca la introducción, generación y retención de contaminantes dentro del área. También denominada área gris.
- **Asepsia:** métodos o procedimientos que impiden o evitan el acceso de gérmenes patógenos o infecciosos.

- **Bioseguridad:** conjunto de medidas preventivas reconocidas internacionalmente, orientadas a proteger la salud y la seguridad del personal y su entorno. Complementariamente se incluye normas contra riesgos producidas por agentes físicos, químicos y mecánicos.
- **Capacitación:** acción de enseñar o habilitar a las personas para el cuidado y la utilización correcta de los animales de laboratorio.
- **Cepa:** grupo de animales comprendido dentro de una especie o variedad, de ascendencia conocida, mantenidos en un sistema de acoplamiento consanguíneo planificado, que se caracteriza por alguna propiedad en particular.
- **Colonia:** grupo de animales que representa una fuente genética única, producida bajo condiciones idénticas de gestión con fines de reproducción.
- **Contaminación:** presencia de un agente infeccioso en la superficie del organismo; también en vestimenta, instrumentos quirúrgicos u otros objetos o sustancias, incluyendo el agua y los alimentos.
- **Control de calidad:** conjunto de procedimientos, técnicos y actividades operativas, destinados a medir, confrontar y verificar que un producto cumpla con las características y especificaciones planificadas.
- **Control de plagas:** la aplicación de métodos, procedimientos, y registros con relación a todos los animales, (incluyendo aves, roedores e insectos) que deben excluirse de las instalaciones donde se crían los animales de experimentación.
- **Cuarentena:** periodo de aislamiento al que se someten los animales de laboratorio, en un lugar específico, con el fin de conocer su estado de salud.
- **Desinfección:** procedimiento destinado a destruir los agentes patógenos para los animales y el ser humano, que se aplica a los locales, vehículos, así como a los implementos que sean usados en los establecimientos. Se debe efectuar posteriormente a la limpieza.
- **Desinfectante:** agente químico empleado para la inactivación o destrucción de bacterias vegetativas, hongos, virus pero no necesariamente esporas bacterianas, generalmente se usa productos de limpieza eficaces, de composición conocida, no tóxico y fácil de aplicar
- **Detergente:** agente de limpieza que se emplea para eliminar residuos

insolubles en el agua, contiene productos tensoactivos que actúan mediante tres mecanismos: humectación, emulsificación y dispersión.

- **Esterilización:** proceso para la destrucción de toda forma de vida. Se realiza por medio de vapor húmedo saturado a presión (autoclave), por calor seco (horno), incineración, combustión (mechero de Bunsen) y mediante agentes químicos.
- **Estrés:** reacción de los organismos vivos a diversos estímulos adversos, internos o externos, que tienden a alterar el equilibrio psicológico y fisiológico de un animal, a través de su exposición a condiciones extremas, señalándose a ésta última como “diestrés”.
- **Eutanasia:** procedimiento humanitario empleado para terminar con la vida de los animales de laboratorio, sin producirles sufrimiento.
- **Incineración:** método de tratamiento de residuos que consiste en la oxidación química para la combustión completa de los residuos en instalaciones apropiadas, a fin de reducir y controlar riesgos a la salud y el ambiente.
- **Modelo biológico:** que posee una estructura que reproduce un efecto, proveniente del sujeto original. Se usa para extrapolar resultados desde una especie animal hacia el ser humano.
- **Palatable:** agradable al gusto.
- **Procedimiento:** es el documento de calidad que detalla la manera en que se debe ejecutar una actividad.
- **Protocolo de investigación:** documento que describe las hipótesis por investigar, los objetivos del trabajo, fundamentos, diseño, metodología, consideraciones estadísticas, participantes, calendario de evolución, organización y supervisión.
- **Riesgo:** probabilidad de que ante un determinado peligro se produzca un cierto daño, pudiendo por ello, cuantificarse.
- **Salud ocupacional:** estado de salud, relacionado con la ocupación laboral del individuo.
- **Sistema reproductivo monogámico:** apareamiento de un espécimen macho con su respectiva hembra.
- **Sistema reproductivo poligámico:** apareamiento de un espécimen macho y más de una hembra, por lo general de tres a cuatro especímenes hembras.

- **Tratamiento de material sólido:** todo proceso, método o técnica que permita modificar la característica física, química o biológica del residuo sólido, a fin de reducir o eliminar su potencial peligro de causar daños a la salud y al ambiente.
- **Zoonosis:** denominación genérica de las enfermedades infecciosas de los animales que pueden ser transmitidas al hombre.

BIBLIOGRAFÍA

- In veterinary technology: AVMA, Membership Directory and Resource Manual, 44th ed. Schaumburg, Ill.: AVMA; 1995. p.236-240
- Tur-Mari JA, Orellana-Muriana JM (editors). Animal research and welfare: a partnership. FELASA-ICLAS Joint Meetitn, 7th symposium, Palma de Mallorca 26-28 May 1999. London: Laboratory Animal Ltd; 2000.
- Centro Panamericano de Fiebre Aftosa. Temas seleccionados sobre medicina de animales de laboratorio: El ratón. Río de Janeiro: Centro Panamericano de Fiebre Aftosa; 1988. Serie de Monografías Científicas y Técnicas N.º 3. Disponible en: <http://bvs.panaftosa.org.br/textoc/SerMonCienTec3.pdf>.
- Office of the Federal Register National and Records Administration. Code of Federal Regulations. Title 9, Animals and Animal Products. Washington DC: US Government Printing Office; 1992.
- Venezuela, Ministerio de Ciencia y Tecnología. Código de bioética y seguridad. 2ª ed. Caracas: FONACYT/ Ministerio de Ciencia y Tecnología; 2002. Disponible en: <http://www.fonacit.gov.ve/bioetica.asp>
- WHO Expert Comité on Biological Standarization. Good manufacturing practices for biological products. 42nd Report. Geneva: WHO; 1992. WHO Technical Report Series N.º 822. Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_822.pdf
- Servicio Nacional de Salud Agraria (SENASA), Servicio Nacional de salud. La calidad de los animales de laboratorio y su influencia en las pruebas de diagnóstico, investigación y control de calidad. Lima: Senasa; 2004.
- Olfert ED, Cross BM, McWilliam AA. Guide to the care and use of experimental animals. Ottawa: Canadian Council on Animal Care; 1993. Disponible en: http://www.ccac.ca/en/CCAC_Programs/Guidelines_Policies/PDFs/ExperimentalAnimals_GDL.pdf
- Institute of Laboratory Animal Resources, National Research Council. Guía para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio. Edición Mexicana. Washington: Nacional Academy Press; 1999. Disponible en: <http://www.nal.usda.gov/awic/pubs/noawicpubs/careuse.htm>
- Harlan Sprague Dawley [página de internet] U.S. Extends It's RCC Pre-

Clinical Research Business.[Fecha de acceso: 16 Oct 2006]. Disponible en: <http://www.harlan.com/>.

- Kreger MD. Training materials for animal facility personnel. Beltsville: National Agricultural Library; 1995.
- Nomura T. Defined laboratory animals. *Adv Pharmacol Therap*1987; 5: 325-33.
- Quezada A. Introducción al manejo de animales de laboratorio: roedores y pequeñas especies. Mérida: Universidad Autónoma de Yucatán; 1997.
- Riera L. Animales libres de patógenos específicos. La Habana: Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio; 2006.

Diseño y diagramación FIMART S.A.C.
Este libro se terminó de imprimir en los talleres gráficos de
GRÁFICA TÉCNICA S.R.L.
LIMA- PERÚ