

Guía técnica de uso y manejo de ratones de laboratorio para SEREMIS de salud

Contenido

Propósito de esta guía 5

Introducción a la ciencia de animales de laboratorio (AL) 5

Glosario de términos 6

Requisitos de infraestructura para instalaciones que alojan animales de laboratorio 8

Áreas requeridas en las instalaciones (bioterios, UMAS y salas de procedimiento) 8

Equipamiento de un bioterio 9

Anatomía, etología y fisiología del ratón de laboratorio 12

Características anatómicas del ratón 12

Clasificaciones 15

 Clasificación según su condición genética 15

 Clasificación según calidad microbiológica 15

Condiciones ambientales para la mantención de ratones de laboratorio 15

 Macroambiente 16

 Temperatura 16

 Respuestas de los ratones a las temperaturas 16

 Humedad relativa 16

 Iluminación 17

 Fotoperiodo 17

 Ruidos 17

 Animales silvestres y vectores 17

 Calidad del aire 17

 Presiones diferenciales 18

 Monitoreo de temperatura y humedad 19

Microambiente 19

Material de alojamiento 19

 Enriquecimiento ambiental 23

Aspectos nutricionales en ratones de laboratorio 23

Estrés y distrés en ratones de laboratorio 24

 Distrés 25

 Dolor 26

Patologías del ratón de laboratorio 26

 Patologías bacterianas 27

 Patologías virales 27

 Patologías misceláneas 29

 Enfermedades parasitarias 30

 Tratamiento antiparasitario interno y externo 31

Bioseguridad 32

 Definición y objetivos de bioseguridad 32

 Medidas de bioseguridad para evitar riesgos de accidentes y exposición a materiales peligrosos 32

 Niveles de bioseguridad animal 33

 Nivel de bioseguridad animal 1 33

 Nivel de bioseguridad animal 2 33

Nivel de bioseguridad animal 3 33

Nivel de bioseguridad animal 434

Accidentes más comunes en los bioterios 34

Recomendaciones 34

Manipulación34

Eutanasia37

 Consideraciones para eutanasia en ratones de laboratorio 37

 Transporte de animales de laboratorio 39

Bioética y bienestar animal43

 Principio de las 3 r: reemplazar, reducir, refinar 43

Legislación y regulación en el uso de animales de experimentación44

 Comité institucional de cuidado y uso de animales (CICUA) 45

 Situación actual en legislación y regulación 45

Referencias46

Propósito de esta guía

Esta guía ha sido realizada con el objetivo de dotar de conocimientos y documentación de referencia al personal de los laboratorios de las SEREMIS de Salud que utilizan ratones de laboratorio para los análisis de Marea Roja, con el fin que se logre su mantención y uso correcto, bajo estándares de bienestar animal, con ambientes controlados y condiciones de bioseguridad adecuadas para el personal, para la obtención de resultados confiables y reproducibles.

El usuario podrá consultar esta guía ante cualquier duda, para ello se ha utilizado un lenguaje si bien técnico, de fácil comprensión.

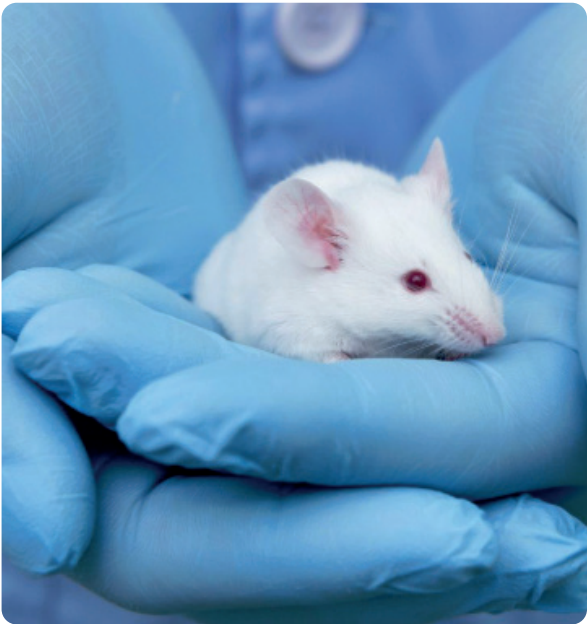
Introducción a la ciencia de animales de laboratorio (AL)

Para poder comprender el concepto de los AL, su fisiología, condiciones de mantención y manejo es necesario comentar el contexto en que se desenvuelve su uso.

Los AL comenzaron a utilizarse para conocer el cuerpo humano y algunos fenómenos relacionados con la salud humana, estudios de anatomía, efecto de medicamentos, creación de vacunas, estudio de enfermedades, métodos quirúrgicos, etc. Fue así como nació la Ciencia de Animales de Laboratorio. Esta es una ciencia multidisciplinaria que tiene como objetivo abordar todos los puntos involucrados en el uso de animales de experimentación, con el fin de darles un buen uso y que los resultados de los experimentos a los cuales serán sometidos sean confiables y reproducibles.

Dentro de las áreas involucradas en esta Ciencia están la microbiología, genética, patología, fisiología, etología, bioseguridad, eutanasia, nutrición, sistemas de ventilación, equipamiento, infraestructura, cirugía, anestesia, analgesia, legislación y transporte, entre otras.

Es así como los AL han sido un gran aporte para la salud de las personas, para el conocimiento de fenómenos que pueden afectar al ser humano y mejorar su bienestar. Sin embargo, la crianza, mantención y uso de estos animales es compleja y si no se realiza bajo condiciones controladas, los resultados de las pruebas a las que serán sometidos podría no ser confiable.



Glosario de términos

Para el entendimiento de esta guía es necesario definir algunos conceptos:

Agente etiológico: es aquel agente causante de una enfermedad o patología

Animal de experimentación: Todo aquel que es utilizado en un experimento (según la definición de experimento de este glosario)

Animales convencionales: animales criados o mantenidos en condiciones que no aseguran la esterilidad del ambiente y los materiales (alimento, agua, material de alojamiento, etc.) y que podrían contener agentes bacterianos, virales o parasitarios, por lo tanto, no son de calidad microbiológica conocida. Las instalaciones donde se aloja este tipo de animales son llamadas convencionales.

Animal de Laboratorio (AL): Todos aquellos animales cualquiera sea su especie, cepa, estado de desarrollo o calidad microbiológica, destinados a estudios específicos, cuya producción y/o mantención ocurre dentro de un Bioterio en el que se someten a un manejo genético, sanitario, alimenticio y ambiental uniforme y adecuado, y en los cuales es posible reproducir en cualquier individuo de cualquier generación, resultados comparables en las pruebas específicas a que son sometidos.

Animales libres de patógenos específicos (SPF): Son aquellos criados o mantenidos bajo condiciones de esterilidad y que poseen una lista de agentes conocida. Las instalaciones donde se aloja este tipo de animales son llamadas SPF.

Bienestar Animal: Estado físico y mental de un animal en relación con las condiciones en las que vive. Un animal experimenta un óptimo bienestar si está sano, en un hábitat confortable, nutrido, enriquecido y seguro.

Bioética: La bioética es una rama de la Ética, encargada de establecer los principios de conducta adecuados y aceptables entre el ser humano y otros seres vivos. La bioética aborda las problemáticas y desafíos que surgen de los avances en la investigación biológica y sus aplicaciones, como por ejemplo, el uso de animales.

Bioterio: Instalación cerrada con condiciones ambientales controladas, destinada a la reproducción, mantención y experimentación con animales. Esta instalación a su vez puede contener unidades de mantención animal y/o sala de procedimientos.

Derivación por cesárea: Método en el cual se extraen los fetos de una hembra gestante a través de cesárea y se transfieren a una hembra nodriza para su lactancia. El objetivo es que los fetos no pasen por el canal del parto para que no contraigan microorganismos. Este método se utiliza para limpiar colonias infectadas.

Distrés: Estado negativo de un animal como consecuencia de sufrir un estrés crónico, donde el estímulo negativo se mantiene y los mecanismos de adaptación se agotan.

Dolor: Experiencia sensitiva o emocional desagradable asociada a un daño o lesión de un tejido.

Experimento: Se entenderá como experimento la definición que se indica en la Ley 20.380 de Protección a los Animales, a saber, conjunto de procedimientos realizados en animales vivos con el fin de verificar una hipótesis científica probar un producto natural o sintético producir sustancias de uso médico o biológico, detectar fenómenos, materias o sus efectos, realizar demostraciones docentes, efectuar intervenciones quirúrgicas y en general estudiar y conocer su comportamiento.

Enriquecimiento ambiental: Manejo que permite al animal en confinamiento, expresar comportamientos específicos de su especie y/o reducir conductas inapropiadas, para mejorar el bienestar, a través de la entrega de estímulos positivos.

Estación Experimental: Recintos semi abiertos o abiertos destinados a experimentación de animales mayores y/o de granja, domésticos o silvestres (bovinos, equinos, ovinos, porcinos y aves, entre otros). En esta unidad se permite la reproducción de animales y puede contener Unidades de Mantención Animal y/o salas de procedimientos. Las condiciones climáticas pueden no ser controladas, pero se deben ajustar a los requerimientos de los animales alojados.

Estrés: Respuesta fisiológica frente a un estímulo amenazante, que genera una serie de reacciones corporales de supervivencia, como por ejemplo aumento de la glicemia y taquicardia.

Eutanasia: Interrupción de la vida de un animal, la cual debe realizarse evitando el sufrimiento, utilizando métodos aprobados y que ocasionen una pérdida rápida e irreversible de la conciencia. Es equivalente al concepto de muerte humanitaria.

Macroambiente: Ambiente físico que se encuentra fuera del confinamiento primario (jaula), como, por ejemplo, salas de mantención de animales. El macroambiente incluye factores como fotoperiodo, temperatura, humedad ambiental relativa, flujo de aire y ventilación, niveles de ruido, vibraciones, entre otros.

Microambiente: Ambiente físico inmediato y limitado que rodea al animal (confinamiento primario), como, por ejemplo, jaulas o microaisladores. El microambiente comprende factores como alimento, agua, material de alojamiento y enriquecimiento ambiental.

Modelo Animal: es aquel animal que permite reproducir enfermedades o respuestas frente a ciertos fenómenos de manera similar al hombre.

Reactivo Biológico: Todo aquel animal que será utilizado en alguna prueba para efectuar un diagnóstico o comprobar una hipótesis.

Recintos para alojamiento de animales: Toda instalación, fija o móvil, incluidas aquellas áreas abiertas, semi abiertas o cerradas, destinadas a alojar permanente o transitoriamente animales. En esta categoría se incluyen los bioterios, unidades de mantención animal (UMA), salas de procedimientos y estaciones experimentales.

Unidades de Mantención Animal (UMA): Recintos destinados al alojamiento transitorio o permanente de animales. En este tipo de recintos se permite alojamiento de animales por más de 24 horas y está prohibida la reproducción de animales.

Sala o Área de Procedimientos: Instalaciones para realizar procedimientos quirúrgicos, no-quirúrgicos, eutanasia y necropsia. Pueden alojar animales por un periodo menor a 24 horas.

Requisitos de infraestructura para instalaciones que alojan animales de laboratorio

Los animales de laboratorio se deben criar y mantener en Bioterios, que son recintos cerrados, cuyas condiciones ambientales son controladas y se deben mantener dentro de los parámetros normativos para cada especie alojada y que tienen requisitos específicos en cuanto a su infraestructura y equipamiento para asegurar el bienestar animal.

El objetivo de los Bioterios, UMAS y Salas de Procedimiento es suministrar las condiciones de alojamiento adecuadas a la especie animal para asegurar su reproducción, condiciones sanitarias, genéticas y de bienestar animal, con el fin de producir animales sanos, libres de patógenos que puedan interferir en las pruebas a las cuales serán sometidos y que permitan obtener resultados confiables y reproducibles.

Tanto los Bioterios, como UMAS y Salas de Procedimiento deben contemplar ciertos requisitos de infraestructura para asegurar buenas condiciones de alojamiento de los animales, las cuales se mencionan a continuación:

- Pinturas lavables y resistentes a detergentes y desinfectantes para muros, cielos y divisiones.
- Puertas herméticas, para la mantención y eficiencia de sistemas de ventilación y evitar el ingreso de agentes indeseables a la colonia.
- Salas de animales sin ventanas, ni ventilaciones, que permitan el ingreso de aire externo sin filtrar.
- Zócalo sanitario en uniones inferiores de muro y piso para evitar acumulación de polvo.
- Pasillos y puertas de ancho considerable que permitan circulación de carros y equipos.
- Pisos lisos (sin uniones) y antideslizantes, de material resistente a los desinfectantes y detergentes.
- Luces empotradas en el cielo o en áreas altas del muro, para evitar golpes a las fuentes de iluminación.
- Muros de pasillos y salas con barreras metálicas laterales anti golpes.
- Lavaderos y mesones de acero inoxidable o material no poroso, lavable y resistente a detergentes y desinfectantes.
- Cielo y techumbre resistentes para el alojamiento de equipos de ventilación.
- Acceso controlado, ya sea por puerta con cerradura con llave u otros sistemas como control biométrico o sistemas digitales.

Áreas requeridas en las instalaciones (bioterios, umas y salas de procedimiento)

Las áreas que se mencionan a continuación son necesarias para el buen funcionamiento de un Bioterio, sin embargo, su existencia va a depender del tamaño de la instalación, de las funciones y actividades que se realicen y de los recursos disponibles:

- Oficinas o áreas administrativas y archivo de documentación.
- Baños, duchas y vestidores, según cantidad de funcionarios (DS 594 MINSAL).
- Sala de estar o de alimentación. Si no se cuenta con esta área debería existir un casino institucional. Está prohibido comer y beber en las salas de animales.
- Salas de alojamiento, mantención y/o procedimientos con animales. Las salas de procedimiento deben estar separadas de las salas de mantención o alojamiento.
- Sala de cuarentena. Esta sala se utiliza para la observación de animales llegados al Bioterio, con el fin de evitar el ingreso de animales enfermos o infectados con agentes ajenos a la colonia. Se puede evitar esta sala en el caso que la totalidad de los animales que lleguen salgan al mismo tiempo de la sala.
- Pasillos de circulación. Deben tener el ancho adecuado para la circulación de racks, carros de transporte de materiales y el personal.
- Sala de limpieza y lavado de jaulas y bebederos. Debe estar alejada de las salas donde están los animales, por el ruido que generan.
- Sala de esterilización. Aquí se ubica el autoclave que debería ser de doble puerta. (obligatorio en Bioterios SPF y también en bioterios convencionales que utilicen material de alojamiento contaminado, como viruta sucia, por ejemplo).

- Sala de máquinas (Caldera, equipo electrógeno). El equipo electrógeno es obligatorio para Bioterios que controlan el macroambiente con equipos de ventilación dependientes del suministro de electricidad de la red eléctrica.
- Laboratorio de control de calidad animal o área de procesamiento de muestras.
- Área de eutanasia de animales. Debe estar en un lugar alejado de áreas ruidosas.
- Área de atención de clientes.
- Bodega de alimentos.
- Bodega de material de alojamiento.
- Área de acopio de desechos domiciliarios y biológicos.
- Área de recepción o embalaje y despacho de animales.



Área limpia de un bioterio

Equipamiento de un bioterio

Así como los Bioterios, UMAS y salas de procedimiento tienen requisitos para la infraestructura, también el equipamiento necesario para el alojamiento y la experimentación con animales utilizado en dichos recintos tiene sus requisitos, los cuales se mencionan a continuación:

Jaulas y accesorios.

Las jaulas son requeridas para el alojamiento de los animales, existen distintos tamaños, según la especie y la cantidad de animales, sin embargo, deben ser de un material no tóxico, que el animal no pueda morder o roer, resistente a los desinfectantes y procesos de autoclavado, generalmente se fabrican en policarbonato o polisulfona, ambos materiales son transparentes, por lo que, permiten observar el comportamiento de los animales. Todas las jaulas deben tener rejillas en la parte superior y algún accesorio donde disponer el alimento y el bebedero. Las rejillas deben ser de acero inoxidable resistente a los desinfectantes y al autoclavado. Los bebederos también deben ser resistentes a los desinfectantes y al autoclavado, generalmente son del mismo material de las jaulas y las pipetas de acero inoxidable. Antiguamente se utilizaba el vidrio que también es resistente, pero se quiebra y provoca riesgo de heridas cortopunzantes. Las jaulas que tienen rejilla y están en contacto directo con el ambiente de la sala son llamadas jaulas convencionales o jaulas abiertas y las jaulas de los racks ventilados son llamados microaisladores. Estos últimos están conectados al rack y generan un ambiente hermético dentro de la jaula, ya que tienen un conector para el ingreso de aire filtrado y otro para la salida del aire al ducto de extracción del rack. Poseen una tapa que debe tener láminas de filtro HEPA (filtro de alta eficiencia que retiene todo tipo de partículas hasta virus y bacterias) para evitar la entrada de aire ajeno a la jaula.

Jaulas convencionales v/s Microaisladores

Las jaulas convencionales son mucho más económicas que las jaulas con filtro, se pueden autoclavar y son resistentes a los desinfectantes, pero tienen las siguientes desventajas: permiten la contaminación cruzada entre las jaulas vecinas, aumentan el riesgo de alergias al emitir todos los desechos hacia la sala (amoniaco, malos olores) y requiere de estar alojadas en salas que posean equipos eficientes de inyección y extracción de aire (sistemas de ventilación) para remover y limpiar constantemente el aire de la sala. En el caso de los microaisladores éstos tienen las siguientes ventajas: mejora la calidad del aire dentro de la jaula, generan menor carga de amoniaco y malos olores dentro de la jaula, asegura 10 a 15 recambios de aire por hora dentro de la jaula, que es lo que se pide por normativa internacional, evita traspaso de virus, bacterias y parásitos de una jaula a otra, mejora la calidad del aire fuera de la jaula y disminuye el riesgo de alergias a los operadores, es fácil de usar y no requiere de conocimientos técnicos avanzados para su uso. La principal desventaja es su alto costo.

Racks ventilados y carros portajaulas abiertos.

Se requieren para el soporte de jaulas abiertas (carros portajaulas) o microaisladores, en caso de racks ventilados. Los carros portajaulas deben ser metálicos y de material resistente a los desinfectantes para su limpieza y desinfección, idealmente con ruedas para su movilidad, también pueden ser fijos o tipo repisa, fijados al muro. Para el caso de repisas se aconseja que sean de tipo rejilla, de manera que el aire que se genera a la salida de las rejillas de las jaulas sea fácilmente removido por el sistema de extracción. No ocurre así, en el caso de repisas de madera (melanina), donde fuera de la rejilla se tienden a generar bolsones de aire saturado de amoniaco que es difícil de remover por los sistemas de extracción. En el caso de racks ventilados, este tipo de alojamiento asegura una mejor calidad del aire dentro de la jaula, al inyectar aire filtrado por filtro HEPA y extraer aire sucio de cada microaislador, como también, al ser cerrado y no tener contacto con el aire de la sala, permite aislar cada jaula, crear un ambiente estéril dentro de ella y al ser independientes uno de otro, evita la contaminación cruzada entre una jaula y otra. Sus ventajas son que es fácil de instalar, ya que requiere sólo un enchufe para su instalación, son de fácil mantención. Requiere principalmente la mantención anual de los filtros y la limpieza del rack, existe disponibilidad de repuestos de cada pieza. Sin embargo, su principal desventaja es su alto costo, cada Rack con sus microaisladores y utensilios tiene un valor superior a los 30 millones de pesos, dependiendo del tamaño y número de microaisladores. El costo de los repuestos también es alto y todo se vende por separado (jaula, tapas, filtros, tarjetero, pipeta para el bebedero, tapa del bebedero, botella, comedero, etc.). No existen proveedores nacionales, por lo que los repuestos se deben importar.



Rack porta jaulas



Rack ventilado

Mesones.

Idealmente deben ser de acero inoxidable u otro material resistente a los desinfectantes. Todos los días se deben desinfectar los mesones con alcohol 70% u otro desinfectante antes de proceder realizar trabajos sobre ellos.



Lavaderos.

Se requieren para el lavado de jaulas, rejillas, bebederos y otros utensilios. Idealmente deben ser de acero inoxidable, para su lavado y desinfección y de un tamaño y número acorde a la cantidad de implementos que se deben lavar y desinfectar.

Carros de transporte.

Son necesarios para transportar distintos tipos de utensilios dentro del Bioterio: jaulas, sacos de alimento, sacos de material de alojamiento, bebederos, etc. Pueden ser plásticos o metálicos, de material lavable y desinfectable.



Autoclave doble puerta.

Se requiere de manera obligatoria en Bioterios SPF (Libres de Patógenos Específicos) para evitar el ingreso de agentes ajenos a la colonia. Se utiliza para autoclavar casi todo lo que ingresa dentro del Bioterio, como ropa, sacos de alimento, agua, material de alojamiento, jaulas, etc. Debe estar empotrado en el muro que divide el área sucia (área de limpieza y lavado de materiales) y el área limpia dentro del Bioterio y debe tener una puerta por cada área, de manera de ingresar el material desde el área sucia a través del autoclave al área limpia. No son obligatorios en Bioterios convencionales o abiertos. Requieren de personal certificado por la SEREMI de Salud para su uso. Son una de las barreras sanitarias más importantes en un Bioterio, sin embargo, son de alto costo y requieren de constante mantención.



Máquinas lavadoras e hidrolavadoras.

Se utilizan para el lavado de jaulas, bebederos, carros porta-jaulas, racks ventilados, microaisladores, tapas o rejillas de jaulas, sirven para automatizar y estandarizar el proceso de lavado. Se requiere un solo funcionario que alimente el equipo con las jaulas y que reciba las jaulas limpias con la cama al final del proceso. También existen las estaciones de lavado y desinfección de bebederos que cumplen la misma función. Son de alto costo y requieren mantenciones constantes.



Estaciones de cambio.

Es un equipo semejante a un gabinete de bioseguridad cuyo objetivo es evitar el contacto de los animales con el aire de la sala. Generalmente inyectan aire con presión positiva, de manera que empujan el aire fuera de la cámara e impiden que el aire de la sala ingrese al interior de la estación. Son obligatorias en Bioterios SPF y se utilizan cuando los animales deben salir del microaislador, por ejemplo, para realizar un procedimiento o cambio de jaula.

Manejadora de desechos.

Es un equipo que tiene como objetivo proteger al operador de la inhalación de polvo u otras partículas que se generan durante la limpieza de las jaulas contaminadas o con material sucio. Poseen un equipo de extracción que capta dichas partículas y las lleva a un filtro HEPA, por lo cual disminuye el riesgo de alergias para el operador. Puede ser utilizado en Bioterios convencionales y SPF.

Equipos de climatización.

Son equipos que climatizan el ambiente de la sala y controlan la temperatura y la humedad para mantenerla en los rangos normativos según la especie alojada. Generalmente están asociados a Unidades de Mantención de Aire (UMA), permitiendo que la UMA inyecte aire a la temperatura deseada.

Generador eléctrico.

Son equipos que se utilizan para dar continuidad al suministro eléctrico cuando hay cortes de luz y de esta manera mantener el funcionamiento de equipos que requieren suministro eléctrico como sistemas de aire acondicionado, autoclaves, luminarias, racks ventilados, etc.

Calderas.

Son equipos generadores de agua caliente y vapor de agua para los procesos que requieran este tipo de suministros, tales como autoclaves, salas de lavado, maquinas lavadoras e hidrolavadoras, etc.

Anatomía, etología y fisiología del ratón de laboratorio**Características anatómicas del ratón**

Los ratones de laboratorio son de la especie *Mus musculus*, son de pequeño tamaño, en algunos casos son albinos de capa pilosa sin color y ojos despigmentados como los ratones de cepa CF-1 o bien con pelaje de color y ojos pigmentados como el ratón de cepa C57BL6 que es de color negro.



Su frecuencia cardíaca fluctúa entre los 500 a 700 latidos/min. Posee 4 incisivos, dos superiores y dos inferiores, no tienen caninos (colmillos), ni premolares y poseen 12 molares, 3 a cada lado, superiores e inferiores, en total 16 piezas dentales. Sus dientes nunca dejan de crecer, por lo que necesitan roer objetos duros de manera constante para controlar el crecimiento de sus dientes.

Poseen 5 pares de glándulas mamarias, por lo que están adaptados para mantener una crianza de 10 crías por parto, aunque en el laboratorio pueden llegar a tener camadas mucho más numerosas.

El peso al nacer 0,5 a 1,5 gramos, mientras que su peso adulto puede fluctuar entre los 30 a 40 gramos.

Su temperatura corporal fluctúa entre los 36,5 a 38°C.

Son Omnívoros y su consumo diario de alimento puede llegar hasta los 10 g/día, mientras que el consumo diario de agua puede llegar hasta los 6 mL/día

Poseen orejas sobresalientes y alargadas y un hocico alargado con vibrisas (bigotes) largas que son muy sensibles al tacto.

Características reproductivas

El ratón es una especie que posee características reproductivas que lo hacen ser una especie muy prolífica. Su tamaño de camada es numeroso, su periodo de gestación corto y ciclo de vida corto, lo cual lo hace ser una especie ideal para ser utilizado en el laboratorio.

La pubertad se alcanza entre los 50 a 60 días de edad, el ciclo estral dura 4 a 5 días, existe un celo 24 horas después del parto que es fértil, permitiendo a la hembra quedar preñada si el macho está presente durante ese período. La gestación tiene una duración de 19 a 21 días. Los tamaños de camada pueden llegar hasta las 20 crías por parto. La edad de destete fluctúa entre los 18 a 21 días con 8 a 10 gramos de peso. Aunque un ratón puede vivir hasta cerca de los 2 años, su vida útil reproductiva fluctúa entre los 6 a 8 partos, ya que después de ese período comienza a perder eficiencia reproductiva, baja el tamaño de la camada y se alarga el lapso entre cada parto.



Hembras con sus camadas

Características etológicas o conductuales

El ratón es un animal muy tímido, le gusta estar en grupos, pero es territorial.

Es una especie presa, es decir, cree estar siempre a la vista de un depredador, por eso necesita esconderse. Ha desarrollado sus sentidos para captar al depredador y esconderse de él.

Es de hábitos principalmente nocturnos, la reproducción ocurre principalmente de noche.

Las cepas no consanguíneas son más dóciles (por ej. CF-1), mientras las cepas consanguíneas son más nerviosas y agresivas (por ej. Balb/c)

Los machos adultos son muy territoriales, por lo que tienden a pelear si se encuentran con otros machos en su jaula o espacio.

Producen un olor desagradable, debido a la gran cantidad de amoníaco excretada en la orina, el cual en grandes concentraciones puede ser tóxico para el operador (sobre 20 ppm como Valor Límite Ponderado (LPP) para una exposición diaria de 8 horas) y principalmente para los ratones, por eso es importante y necesario un buen sistema de extracción de aire que remueva el aire de la jaula y de la sala.

Como conducta de dominancia se da el Barbering, que consiste en que en un grupo de ratones aquel que es dominante saca los pelos del resto, incluyendo muchas veces las vibrissas, que tienen una función neurológica y táctil para controlar el equilibrio y determinar las texturas del ambiente.

Requieren de un fotoperiodo de 12 a 14 horas de luz y 10 a 12 de oscuridad, lo cual es necesario para mantener el ritmo circadiano, que sirve para sincronizar las funciones biológicas de 24 horas del cuerpo con el ciclo de día y noche, regulando procesos como el sueño-vigilia, la liberación de hormonas (como el cortisol), la temperatura corporal y el metabolismo.

Órganos de los sentidos

El ratón posee una visión muy pobre y borrosa, la cual es más eficiente de noche que de día.

El olfato es uno de sus sentidos más desarrollados y coincide con encontrarse en uno de los sectores que ocupa mayor lugar dentro de la cabeza. Por ello, es capaz de captar de manera muy sensible feromonas a grandes distancias, las cuales son eliminadas con fines reproductivos y territoriales.

El tacto se percibe principalmente a través de las vibrisas o bigotes, las cuales están conectadas directamente con sectores del cerebro, lo que les permite explorar el entorno y obtener información detallada de su ambiente cercano, incluso en la oscuridad. Además de las vibrisas, los ratones también utilizan pelos protectores más largos y las almohadillas sensoriales en sus pies para percibir estímulos táctiles.

El sentido de la audición también es uno de los más desarrollados y son capaces de captar sonidos muy agudos, principalmente en ondas de ultrasonido que las personas no son capaces de captar. Se comunican a través de ruidos imperceptibles cuya frecuencia y volumen tiene distinto significado.

Los ratones presentan una conducta llamada tigmotaxis, que es la tendencia a permanecer cerca de superficies verticales, es decir, camina por las orillas de los muros o las jaulas, para sentirse seguro.



Audición y olfato: los sentidos más desarrollados

Formas de comunicación

Los ratones se comunican principalmente a través de sonidos (como chillidos ultrasónicos y otros más audibles), feromonas (señales químicas en su orina y otras secreciones que indican peligro, apareamiento o territorio) y lenguaje corporal (movimientos y expresiones faciales) para transmitir información social y emocional. Su agudo sentido del olfato es crucial para interpretar las señales químicas que dejan en el ambiente, como las marcadas con la orina.

Vocalizaciones

Los ratones emiten una amplia gama de sonidos, la mayoría en un rango de ultrasonido que es inaudible para los humanos.

La comunicación de emergencias se da mediante chillidos, que pueden alertar a otros ratones sobre la presencia de peligros.

Feromonas y olor

Las feromonas son sustancias químicas que son esenciales en su comunicación, las cuales excretan en su orina y otras secreciones y son utilizadas como marcadores químicos y otros mensajes más complejos como comunicar información sobre la disponibilidad para aparearse, la identificación de individuos de su grupo, y la presencia de comida o de una amenaza en el entorno.

Lenguaje corporal

Se comunican a través de posturas y movimientos corporales específicos que pueden durar fracciones de segundo. También a través de expresiones faciales como el enrojecimiento de las orejas, para comunicar su estado emocional.

Comportamiento social

Los ratones son animales sociales, les gusta estar en grupos y participan en comportamientos lúdicos, como correr y perseguirse, como parte de su interacción social.

Ayuda mutua: También se comunican para ayudarse mutuamente, como alertarse de peligros o cuidar de las crías.

CLASIFICACIONES

Clasificación según su condición genética

Según su condición genética se clasifican en consanguíneos y no consanguíneos

Consanguíneos: cruces entre hermanos (ejemplo cepa Balb/c), genéticamente son todos iguales, es decir tienen el mismo ADN, por ello son muy utilizados en investigación científica, ya que de esa manera el animal deja de ser una variable más dentro del experimento, al ser todos iguales.

No consanguíneos: cruces entre reproductores que no tienen ningún grado de parentesco, como por ejemplo la cepa CF-1. Tienen características reproductivas, como gran tamaño de camada y lapso interparto corto, que lo hacen deseables para pruebas donde se utilizan grandes cantidades de animales, como por ejemplo el bioensayo para detectar toxinas marinas.

Clasificación según calidad microbiológica

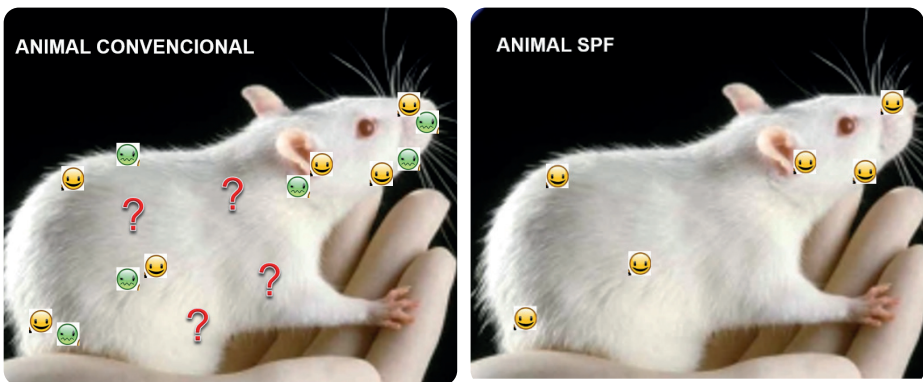
Animales convencionales

No son criados bajo barreras sanitarias estrictas y pueden tener algunas bacterias, virus o parásitos. Generalmente son criados en Bioterios abiertos, sin barreras sanitarias estrictas y con sistema de jaulas abiertas. No siempre se conocen los agentes que poseen. Se pueden utilizar en pruebas donde los agentes que puedan tener presentes no alteren los resultados.

Animales SPF

SPF de la sigla en inglés Specific Pathogen Free, que significa libre de patógenos específicos.

Son criados bajo barreras sanitarias estrictas, en Bioterios completamente cerrados y alojados en racks ventilados. Solo tienen gérmenes comensales que no les producen enfermedades. Se debe certificar la lista de agentes presentes con análisis específicos que detecten la presencia de los agentes en el animal. Posteriormente a ser adquiridos del Laboratorio de origen, se debe monitorear el estado sanitario de los animales para asegurar que mantienen la condición de SPF de origen, es decir que no hayan adquirido nuevos agentes durante el alojamiento en el Bioterio.



Condiciones ambientales para la mantención de ratones de laboratorio

El ambiente de un ratón de laboratorio criado en un Bioterio es todo aquello que lo rodea y que puede influir en su comportamiento.

El ambiente dentro de un bioterio se puede clasificar en dos, el microambiente corresponde a aquel que está dentro de la jaula y el macroambiente al que está fuera de la jaula y dentro de la sala. Ambos son distintos y tienen características y factores específicos que pueden influir en el comportamiento y bienestar del ratón de laboratorio.

Macroambiente

Los factores que influyen en el macroambiente son los siguientes:

- Temperatura
- Humedad
- Iluminación
- Fotoperiodo
- Calidad del aire
- Ruidos
- Animales silvestres y vectores

Cabe destacar que las condiciones ambientales de un Bioterio deben estar controladas y mantenidas entre ciertos rangos normativos, para asegurar el bienestar de los animales alojados.

Temperatura

La temperatura de la sala se debe controlar a través de equipos de climatización automáticos, generalmente a través de unidades manejadores de aire (UMA) que inyectan aire climatizado desde el exterior del bioterio hasta dentro de la sala y debe ser monitoreada y registrada diariamente.

El rango de temperatura normativo para ratones de laboratorio se encuentra entre 20 a 26°C. Este rango corresponde a la temperatura de termorregulación del ratón, es decir, en este rango el animal no debe realizar ningún proceso fisiológico de adaptación.

El rango vital de temperatura de un ratón es de -4°C a 34°C . Fuera de esos rangos se puede morir, sobre todo si el tiempo en que se mantenga la temperatura fuera de este rango es prolongado. En peaks cortos y bruscos, de corta duración, el animal puede activar sus mecanismos de adaptación fisiológica y soportar esas temperaturas.

Respuestas de los ratones a las temperaturas

Temperaturas sobre 26°C

Al subir la temperatura ambiental sobre 26°C aumenta la frecuencia cardíaca y respiratoria y sube la presión arterial. El ratón comenzará a generar mecanismos de adaptación para disipar calor, sin embargo, sus mecanismos para disipar calor son muy pobres, no existe como en otras especies la transpiración o el jadeo, sino que comienza a abrir el hocico (boqueo), se mueve más rápido y toma más agua.

Temperaturas bajo 20°C

Como mecanismos de adaptación para temperaturas bajo los 20°C, el ratón reduce sus movimientos y se agrupan para darse calor. Baja la frecuencia cardíaca y respiratoria y baja la presión arterial. Se genera piloerección al contraerse los músculos piloerectores, con esto tiende a retener aire sobre la piel y calentarlo. También tienden a cubrirse con el material de alojamiento.

Las altas temperaturas inhiben la reproducción y pueden provocar canibalismo, mientras que las bajas temperaturas inducen cuadros respiratorios.

Humedad relativa

La humedad relativa es controlada con humidificadores y deshumidificadores, los cuales están adosados al sistema de ventilación. El rango normativo para el ratón es 30 a 70% (Guía ILAR, 2011).

Las fuentes de humedad del macroambiente son la respiración animal y humana, agua de bebida y lavado y desinfección de la sala.

A diferencia de la temperatura, los ratones soportan bien rangos de humedad superiores e inferiores a los normativos y no generan mecanismos fisiológicos de adaptación.

Los ambientes muy húmedos pueden producir cuadros respiratorios y sobrecrecimiento de hongos, mientras que los ambientes muy secos pueden producir necrosis de la cola (síndrome cola en anillo), principalmente en las ratas, más que en los ratones.

Iluminación

Una iluminación adecuada es necesaria para la conducta normal de las especies e influye directamente en la reproducción.

La iluminación debe ser homogénea dentro de la sala y abarcar todas las áreas de trabajo, para permitir una buena inspección de los animales y buenas condiciones de trabajo.

Los racks de alojamiento de jaulas deben disponerse de manera tal que permita el acceso de la luz a todas las jaulas. Generalmente, las jaulas de los niveles inferiores reciben menos luz que aquellas dispuestas en niveles superiores, por lo tanto, una buena medida puede ser la rotación de jaulas para ir variando la cantidad de luz que reciben en el tiempo.

Por otro lado, se debe procurar no exponer a los animales a fuentes de luz directas y cercanas de alta intensidad, ya que algunas especies son albinas y carecen de pigmento ocular, en esos casos la exposición directa a luz de alta intensidad puede provocar daño ocular. Se debe proporcionar elementos de enriquecimiento ambiental para que se puedan proteger y esconder.

El rango normativo de Intensidad lumínica para ratones es de 325 lux a 1 m del suelo (luz blanca).

Aunque el ratón es una especie nocturna, igual necesita horas de luz para su conducta normal.

Fotoperiodo

El fotoperiodo corresponde a la cantidad de horas de luz y de oscuridad dentro de un día completo (24 horas). El rango de fotoperiodo normativo para ratones es de 12 a 14 horas de luz y 10 a 12 de oscuridad. Debe ser controlado con switch automático para asegurar el encendido y apagado del sistema de iluminación.

La cantidad de horas de luz y oscuridad durante el día afecta la reproducción y conducta animal, ya que incide directamente sobre el reloj biológico de los roedores.

Se debe evitar el ingreso de luz natural a las salas, ya que esto puede afectar el fotoperiodo.

Ruidos

La ausencia de ruidos es imposible, pero debe controlarse al máximo. Lo ideal es no superar los 70 decibeles, ruidos mayores a ese rango producen estrés, canibalismo y daño acústico. Los ruidos agudos, fuertes y repentinos producen mucho estrés en los ratones, ya que tienen alta sensibilidad acústica y son capaces de percibir sonidos muy agudos.

Se recomienda no limpiar, lavar jaulas, ni realizar procesos ruidosos dentro las salas de animales.

Las salas ruidosas, como la sala de lavado y desinfección, deberían estar alejadas de las salas de animales.

Dentro de las salas se debe prohibir gritar, silbar y escuchar música a alto volumen, ya que para los ratones lo ideal es un ambiente silencioso.

Animales silvestres y vectores

Se debe evitar al máximo el ingreso de animales silvestres (ratones silvestres, gatos, pájaros, etc.) e insectos, ya que ingresan agentes infecciosos a la colonia de animales, para ello se debe contar con barreras sanitarias y barreras físicas para evitar su ingreso al Bioterio.

Debe existir un programa de desinsectación y desratización para roedores silvestres, palomas e insectos.

Los alimentos se deben almacenar alejados del suelo y del muro para evitar contagio por insectos u hongos y los desechos orgánicos se deben disponer en contenedores cerrados y alejados del Bioterio, ya que son fuentes de roedores silvestres.

Calidad del aire (Sistemas de ventilación)

La ventilación es uno de los factores más importantes para proporcionar una buena calidad de aire y para mantener el control del macroambiente de las salas.

La calidad del aire se controla por sistemas de ventilación, que incluyen equipos de inyección y extracción de aire, junto con equipos de climatización y control de humedad.

Debido al funcionamiento simultáneo de inyección y extracción de aire se genera movimiento de las partículas suspendidas en el aire y remoción de ellas hacia el sistema de extracción y salida fuera de la

sala, esto provoca que se vaya generando un recambio de aire sucio a limpio. La normativa indica que debería existir un rango de 10 a 15 recambios de aire por hora, es decir en una hora el aire de la sala se cambia 10 a 15 veces.

El objetivo de los sistemas de ventilación es por una parte la remoción de todas las partículas suspendidas en el aire, tales como amoníaco, alérgenos, polvo en suspensión, microorganismos y partículas producto de la respiración humana y animal. Por otro lado, son los responsables del control de la temperatura y la humedad de la sala.

El equipo de inyección del sistema de ventilación, capta aire desde el exterior de la sala para ingresar lo dentro, por lo tanto, para evitar el ingreso de aire sucio lo debe filtrar. Para ello, se utilizan filtros HEPA (filtración de alta eficiencia), para retener y evitar el ingreso de partículas en suspensión, incluyendo virus y bacterias, por lo tanto, el aire que ingresa a la sala es aire limpio y de buena calidad sanitaria.

Los equipos de extracción del sistema de ventilación captan el aire dentro de la sala y lo sacan fuera. Para proteger el medioambiente exterior al bioterio se debe incluir filtros a la salida del equipo de extracción como, por ejemplo, filtros de carbón activado para retener partículas de amoníaco que generan mal olor en las salas y también, como medida importante de bioseguridad, filtros HEPA de alta eficiencia, en el caso de bioterios de experimentación que trabajan con agentes infecciosos peligrosos para la comunidad.

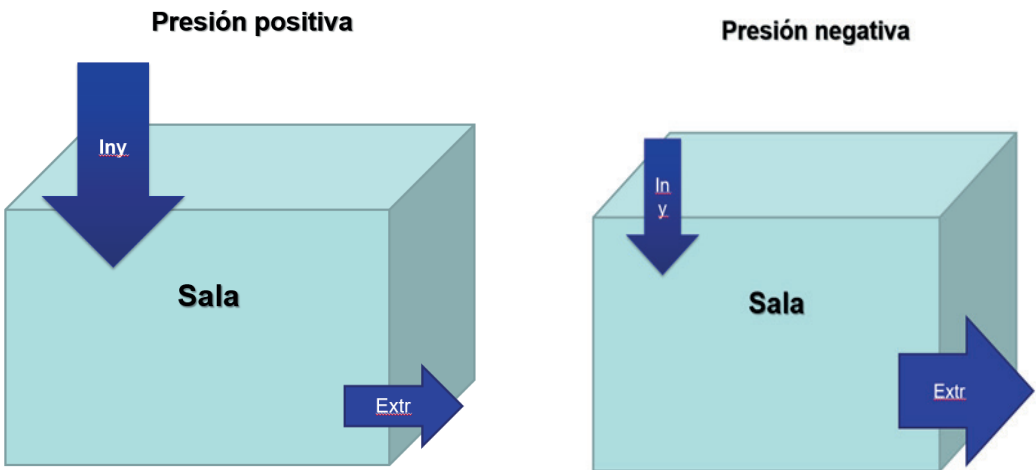
En el caso de alojamiento con racks ventilados, la calidad del aire que ingresa a los microaisladores es de muy buena calidad, ya que el aire sufre doble filtración, la filtración del equipo de ventilación de la sala (macroambiente) y la del rack ventilado que filtra el aire de la sala para ingresarlo dentro del microaislador (microambiente).

Por su parte, el aire que sale del microaislador es filtrado por el rack e idealmente debe ir conectado directamente al ducto de extracción de la sala, de manera que salga de la sala y no quede dentro.

Presiones diferenciales

Los sistemas de ventilación también pueden controlar el flujo de entrada y salida del aire a las salas y generar gradientes de presión de aire que pueden provocar ingreso de aire o salida de aire de las salas. El sistema puede generar presión positiva si los equipos de inyección de aire tienen mayor intensidad que los equipos de extracción o presión negativa si los equipos de extracción tienen mayor intensidad que los equipos de inyección.

Dependiendo de la calidad de los animales que se encuentren alojados en las salas será el tipo de presión que se implementará. Por ejemplo, en el caso de salas de producción o crianza de animales, se debe proteger la calidad sanitaria de los animales que se encuentran alojados dentro de la sala, por lo tanto, se debe evitar el ingreso de aire desde los pasillos, así que se implementará presión positiva. Al contrario, en salas que alojen animales contaminados, sobre todo con agentes patógenos que puedan ser peligrosos para la comunidad o el resto del personal del bioterio, se debe evitar la salida de aire de la sala a los pasillos y se implementará presión negativa.



Monitoreo de temperatura y humedad

Se debe realizar un monitoreo constante de la temperatura y humedad de las salas. Existen sistemas de monitoreo on line, los cuales proporcionan trazabilidad de los registros y es posible conocer la temperatura y humedad de las salas a distancia a través del computador y en todo momento. Cuando la temperatura sobrepasa los rangos establecidos (20 a 26°C) se genera una alarma que se envía por correo, lo cual permite tomar medidas correctivas preventivas y oportunas.

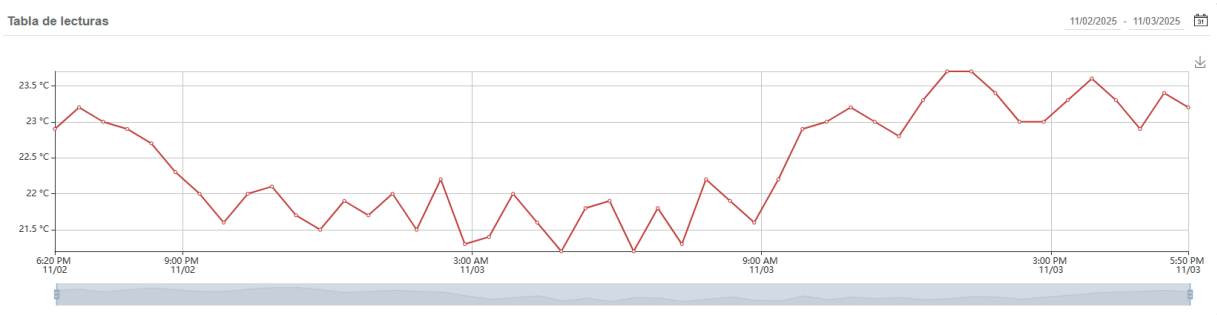


Gráfico de registros de temperatura de una sala de Bioterio (sistema on line)

Cuando no se puede contar con estos sistemas, se debe realizar el monitoreo manual, que implica anotar en un registro la temperatura y humedad de la sala en distintos momentos de la jornada laboral. Los sensores deben entregar al menos los registros máximos y mínimos dentro de una jornada, el inconveniente es que no se tendrá conocimiento del momento de la jornada en que se dieron estos registros y en este caso las medidas a tomar pueden no ser oportunas si los desvíos ocurren fuera de la jornada laboral.

Microambiente

El microambiente es el aire que se encuentra dentro del recinto de alojamiento de los animales, ya sea jaula o microaislador. Es distinto al macroambiente (ambiente fuera de la jaula) y está influenciado por otros factores que son material de alojamiento, densidad animal, olores, agua, alimento y enriquecimiento ambiental.

Material de alojamiento

El material de alojamiento impacta directamente en la calidad del aire dentro de la jaula, ya que se utiliza para absorción de orina y retención de heces de los animales. Dentro de los materiales utilizados se encuentran la viruta de maderas blancas, mazorca de maíz molida y distintos tipos de papel prensado o pelletizado.

El material de alojamiento puede ser una fuente importante de ingreso de microorganismos a la colonia de animales, por lo tanto, se debe asegurar que su calidad sanitaria sea apropiada según la calidad de los animales alojados. Dependiendo del caso debe ser autoclavada, irradiada o procesada a altas temperaturas. Por ejemplo, para animales SPF debe ser obligadamente autoclavada o irradiada y para animales convencionales se puede utilizar material de alojamiento procesado a altas temperaturas. En este caso se deben analizar muestras del material para asegurar que no haya presencia de agentes patógenos. Es importante que el envase del material de alojamiento sea impermeable, resistente y no tenga aberturas.

El material de alojamiento tiene distintas funciones como por ejemplo ser aislante térmico y en algunos casos ser fuente de calor para los animales. También permite la nidación y en algunos casos es fuente de enriquecimiento ambiental.

Debe estar libre de agentes químicos y polvo.



Pellet de papel

El papel pelletizado ha sido procesado a altas temperaturas, por lo tanto, tiene una calidad sanitaria aceptable para animales convencionales, sin embargo, es importante la calidad del envase y de almacenamiento (bodegaje) para que siga manteniendo su calidad inicial.

- **Ventajas**

Es el material que tiene mayor rendimiento de absorción, esta característica permite cambios de cama más aislados, una vez por semana o hasta una vez cada dos o tres semanas en racks ventilados con pocos animales pormicroaislador.

El proceso de pelletizado se realiza a altas temperaturas y esto favorece la muerte de muchos microorganismos, por lo tanto, no requiere esterilización y puede ser utilizado directamente en el caso de alojamiento de animales convencionales, no así en el caso de animales SPF, donde debe ser obligadamente autoclavado o irradiado.

Deja menos residuos de polvo que la viruta y otros materiales y también se le pueden adicionar neutralizadores de olores, mejorando la calidad del aire en ese sentido.

- **Desventajas**

Debido a la tecnología que implica su procesamiento, tiene alto costo.

No posee valor en enriquecimiento ambiental, ya que los animales no se pueden esconder, ni jugar con él, ni proporciona posibilidades de nidaje al ser un material duro y desagregado, por lo mismo tampoco funciona como fuente de calor y aislamiento.



Papel prensado (sustrato de celulosa)

Es un sustrato procesado de celulosa que puede ser virgen o reciclado y se presenta en forma de hojuelas.

- **Ventajas**

Al ser un material de hojuelas suaves permite la nidación, proporciona calor a los animales y tiene alto valor en enriquecimiento ambiental, ya que los animales se pueden esconder y jugar con ella.

Al ser de material virgen durante su proceso baja la carga bacteriana, a diferencia de la viruta que posee mayor carga bacteriana.

Posee mayor poder de absorción que la viruta.

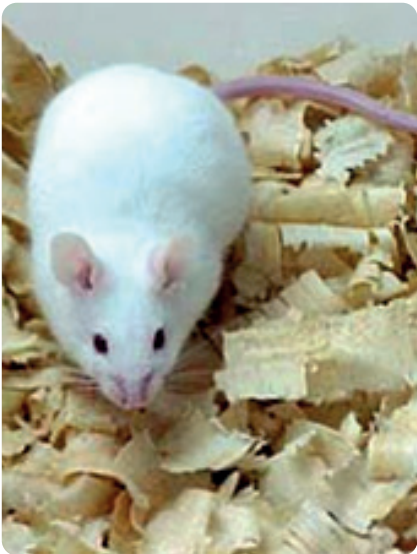
Es más liviano que el pellet de papel, por lo que, sus sacos son más livianos y de mayor volumen.

Se expande con la humedad, por lo que abarca mayor superficie.

- **Desventajas**

Es de mayor costo que el pellet de papel y que la viruta.

Tiene menor poder de absorción que el pellet de papel.



Viruta de madera

- Ventajas
Al ser un material de hojuelas suaves permite la nidación, proporciona calor a los animales y tiene alto valor en enriquecimiento ambiental, ya que los animales se pueden esconder y jugar con ella.
Por último, es el material de alojamiento más económico con respecto a los demás tipos de material.
- Desventajas
Deja muchos residuos de polvo, tiene bajo poder de absorción. Al venir de barracas de madera puede presentar contaminación, por lo que obligadamente se debe autoclavar.
Al tener bajo nivel de absorción requiere de cambios de cama más frecuentes.
Las hojuelas de la viruta son más duras que las de prensado de celulosa, por lo que esta última tiene mejor efecto para proporcionar nido.

Densidad Animal

Se define como la cantidad de animales que hay dentro de una jaula.
Una buena densidad debe permitir a los animales moverse, comer, descansar, pararse y jugar.
En los ratones se debe considerar su conducta sociable, no se deben alojar animales solos.
La densidad animal está normada en guías internacionales y se mide en centímetros cuadrados.
Con estos valores se calcula cuantos animales se pueden alojar en una jaula.
Una alta densidad animal puede provocar stress, aumento de temperatura, amoniaco y CO2 dentro de la jaula y conductas agresivas.



ESPECIE	PESO (gr)	AREA POR ANIMAL (cm2)	ALTURA JAULA (cm)
Ratón	Menos de 10	38,7	12,7
	11 a 15	51,6	12,7
	16 a 25	77,4	12,7
	26 a 30	96,8	12,7
	H+camada	330	12,7

Densidad animal normativa para ratones de laboratorio.

Medidas prácticas para alojamiento en jaulas convencionales:

Ratones en jaulas de 19 x 30 cm:

- <10 gr 15
- 10-15 gr 11
- 15-25 gr 8
- 1 hembra con su camada

Ratones en jaulas de 17 x 30 cm:

- <10 gr 13
- 10-15 gr 9
- 15-25 gr 6 animales
- 1 hembra con su camada

Olores

Los olores de origen animal son un factor importante que impacta el microambiente de los animales e incide en su conducta y reproducción.

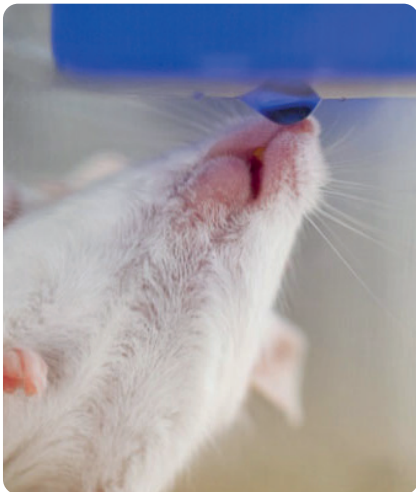
La limpieza de jaulas con excesiva frecuencia produce estrés ya que el ratón es territorial y en cada cambio debe volver a marcar su territorio y se generan feromonas reproductivas y otras que inciden en la comunicación y conducta animal, por lo mismo, induce peleas entre los machos alojados en la misma jaula después del cambio de cama y altera el comportamiento reproductivo.

La falta de limpieza, produce acumulación de amoníaco, lo que induce irritación de vías aéreas y stress.

Se debe compatibilizar la frecuencia de cambio de cama considerando los factores mencionados, según la densidad animal, el material de cama y el sistema de alojamiento utilizado (jaulas abiertas o racks ventilados con microaisladores)

La frecuencia recomendada para jaulas abiertas es de 1 a 2 veces a la semana, dependiendo de la densidad animal y del material de cama. En el caso de rack ventilados puede ser 1 vez por semana a 1 vez cada 2 a 3 semanas.

Se debe evitar el uso de desinfectantes con aromas y perfumes en el personal.



Agua

El suministro de agua debe ser a libre demanda, es decir, el animal siempre debe tener agua disponible, la cual debe estar siempre fresca. En bioterios convencionales el agua puede ser potable, pero en los que alojan animales SPF (libre de patógenos) el agua debe ser autoclavada, acidificada, filtrada o irradiada.

La falta de agua produce estrés fuerte y conductas agresivas como peleas y canibalismo.

Se debe estar muy atento a la calidad de los tapones y pipetas de los bebederos para que no se vacíe el agua dentro de la jaula.

El agua de bebida debe ser controlada diariamente en su calidad microbiológica y cantidad de cloro y otros minerales.



Alimento

El alimento también puede afectar el microambiente y la conducta de los animales.

En ratones de bioterios de crianza o producción se da a libre demanda, es decir, el alimento está siempre disponible.

En ratones de experimentación, algunos protocolos requieren restricción de alimento. La restricción de alimento genera estrés muy fuerte y puede alterar los resultados de las pruebas, por lo que esta medida debe ser muy justificada y aprobada por un Comité de Institucional de cuidado y uso de animales.

El alimento de ratones de laboratorio se puede presentar pelletizado o extruido. Generalmente se dispone sobre la rejilla de la jaula y el animal lo va comiendo de a poco. Alimentos más duros favorecen el control de crecimiento de los dientes.

El alimento puede ser una fuente de contaminación, por ello, debe ser analizado microbiológicamente. El envase debe ser resistente e impermeable y no debe tener aberturas, para evitar el ingreso de agentes contaminantes e insectos.

El gran problema de los alimentos para los bioterios de ratones es su alto costo y puede incidir de manera importante en los costos de producción.

Enriquecimiento ambiental

Son materiales que se incluyen dentro de las jaulas para favorecer el juego, el nidaje y otras conductas necesarias en los animales.

Los ratones son especies presa, es decir, siempre están alertas a los depredadores, por eso necesitan esconderse, eso les da seguridad y reduce el estrés.

Está demostrado que las hembras con material para hacer nidos, hoja de papel o viruta, por ejemplo, favorece la sobrevivencia de las crías y mejora el tamaño de camada.

Los alojamientos con material de enriquecimiento para esconderse como rollos de papel higiénico o iglú, mejoran la conducta y productividad de los animales. Los iglúes de color infrarojo son útiles porque el ratón capta el infrarojo como color negro, por lo que se siente seguro dentro de él y a la vez permite la observación de su conducta por parte del operador.



Aspectos nutricionales en ratones de laboratorio

Los ratones de laboratorio, al igual que todos los animales, tienen requerimientos nutricionales específicos que deben cubrir para su desarrollo. Una buena alimentación influye en su crecimiento, reproducción, salud, inmunidad y bienestar. Por otro lado, una mala alimentación puede alterar los resultados de una investigación.

Un buen alimento debe satisfacer todos los requerimientos nutricionales, tener ingredientes de buena calidad, ser palatable, es decir, tener un sabor que sea aceptado por la especie, ser estable, es decir que no se descomponga al contacto con el aire, debe tener buena calidad sanitaria (baja carga de microorganismos), buena digestibilidad, es decir, que el animal lo digiera bien y aproveche el máximo de nutrientes.

Existen guías que realizan recomendaciones para una buena alimentación dependiendo de las distintas especies. En el caso de la Guía de la National Research Council, que es una de las de mayor referencia, se mencionan las siguientes recomendaciones:

- Los animales deben recibir diariamente alimentos palatables, no contaminados y nutricionalmente adecuados según la especie.
- Se debe cuidar que a través del alimento que no ingresen a la colonia agentes infecciosos, insectos, parásitos y contaminantes químicos.
- Se debe exigir al proveedor del alimento el análisis nutricional de cada partida.
- El usuario debe revisar la fecha de vencimiento del alimento.
- Los alimentos deben ser almacenados sobre una plataforma lejos del suelo y de los muros para evitar contaminación de hongos e insectos.
- Los agentes infecciosos y sustancias tóxicas del alimento pueden provocar alteraciones fisiológicas e interferencia en los resultados.
- Debe existir un programa de control de plagas para las bodegas de alimentos.

Los alimentos deben tener ingredientes de buena calidad nutricional, que se ajusten a las especies, por ejemplo, en el caso del ratón se requieren ingredientes con bajo contenido de fibra y altos en proteínas de buena digestibilidad. La digestibilidad es el porcentaje de alimento que el animal digiere. Lo que no digiere se elimina en las heces.

Almacenamiento

La bodega de almacenamiento debería ser amplia, adecuada a la cantidad de alimento utilizada.

El alimento se debe mantener en buenas condiciones de humedad y temperatura, para ello idealmente, la bodega debería estar climatizada, sobre todo para épocas de mayor calor ambiental, ya que las altas temperaturas tienden a acelerar los procesos de descomposición.

Se recomienda que los sacos de alimento estén alejados del suelo y del muro (10 cm) para evitar la contaminación con insectos y para el caso de ratas y otras plagas, debería tener programa de desratización y desinsectación.

El tiempo de almacenamiento dependerá de la fecha de vencimiento del alimento, por lo que el usuario deberá programar las cantidades de alimento a solicitar, según la frecuencia de consumo, para no perder la vigencia del alimento almacenado.

Análisis del alimento

Cada partida debe ser analizada nutricional y microbiológicamente por el Bioterio.

Existen dos tipos de análisis:

Análisis Químico Proximal

Es el análisis de los porcentajes de nutrientes del alimento, por ejemplo 20% de proteína, 4% de grasa, etc.

Análisis Microbiológico

Es la detección de microorganismos en el alimento.

Se debe descartar la presencia de bacterias patógenas como *Salmonella* sp, *Staphylococcus aureus* y *Clostridium* sp. También se puede realizar la detección de coliformes fecales, detección de aerobios mesófilos y hongos (número de colonias).

Aspectos nutricionales del ratón

El ratón es un animal Omnívoro, es decir, puede consumir nutrientes derivados de ingredientes animales o vegetales.

Los alimentos pelletizados y extruidos son los más usados en ratones, son duros y sirve para roer y gastar los dientes.

Practican la coprofagia (se come sus heces)

Estrés y distrés en ratones de laboratorio

Estrés

El estrés es una reacción fisiológica del animal frente a un peligro o situación de incomodidad, que lo prepara para escapar o esconderse y evitar el peligro, por lo tanto, es beneficioso en un comienzo porque ayuda al animal a reaccionar y adaptarse a una nueva situación.

Una de las características de los ratones de laboratorio es su gran adaptabilidad, por lo que, generalmente son capaces de superar condiciones de estrés con sus mecanismos de compensación.

El estrés provoca los siguientes cambios en el animal: aumento de la frecuencia cardíaca y respiratoria, aumento de la temperatura corporal, dilatación de las pupilas, erizamiento del pelo, aumento de la glucosa en la sangre (glicemia), mayor atención y concentración en las condiciones ambientales (ruidos, movimientos, olores, etc.)

Frente a una condición de peligro el animal reaccionará escapando, escondiéndose, mordiendo, arañando o vocalizando y generará liberación de feromonas de advertencia para el resto de los integrantes de la colonia.

Una vez que el peligro pasa, el animal vuelve a la normalidad, se restablecen las frecuencias respiratoria y cardíaca y la temperatura del cuerpo, volviendo a su estado de normalidad. El animal siempre buscará adaptarse a las condiciones adversas.

Los ratones de laboratorio en un bioterio están sometidos a muchos factores estresantes como, por ejemplo, cambio de cama, manipulación, factores ambientales del macroambiente y microambiente, alimentación y suministro de agua e interacción con otros animales.

La conducta esperada de los ratones, que son especies nocturnas, será esconderse de la luz durante el día, alejarse del ruido, buscar los lugares más tranquilos, lejos de la presencia humana y de otros depredadores. En el laboratorio, dentro de la jaula, el ratón intentará replicar estas conductas y para ello debe disponer de los recursos y herramientas necesarios. Por lo anterior, se debe proporcionar ambientes tranquilos, sin ruido, con la menor presencia humana dentro de las salas, olores neutros, alimento y agua siempre disponibles. Necesariamente se debe contar con elementos de enriquecimiento ambiental los cuales facilitan los mecanismos de adaptación al estrés, por ejemplo, el animal para no ser visto y alejarse del hombre se puede esconder bajo el iglú, la viruta o el rollo de cartón.

Distrés

Si el animal está sometido a condiciones adversas, se generarán las reacciones fisiológicas de estrés mencionadas, pero si estas condiciones se mantienen en el tiempo y el animal no tiene los recursos ni herramientas para adaptarse, los mecanismos de adaptación se agotarán y comenzará a sentirse mal. En este caso el estrés pasa a ser distrés, que es un estado patológico, provocado por condiciones adversas crónicas a las cuales el animal no es capaz de adaptarse y puede llegar a provocar diversas enfermedades o propiciar la aparición de otros cuadros patológicos.

Ejemplos de condiciones que pueden causar distrés en los ratones de laboratorio son, manejo brusco y permanente por parte del personal, cambios de cama muy frecuentes o demasiado alejadas con mucha acumulación de amoníaco y CO₂, falta de agua y alimento, inoculaciones o manejos invasivos frecuentes y dolorosos o inoculaciones que provocan efectos adversos duraderos, condiciones ambientales adversas como alzas de temperatura ambiental fuera de los rangos normativos mantenidas en el tiempo, ruidos fuertes o vibraciones por un periodo largo de tiempo, densidades animales demasiado altas, juntar machos adultos en una misma jaula que generan peleas y alteran la conducta del resto de los animales de la jaula.

Mecanismos de adaptación al Distrés

Los animales en condiciones adversas crónicas comenzarán a generar las siguientes reacciones fisiopatológicas, se mantiene la frecuencia cardíaca y respiratoria en niveles altos, lo que va generando un agotamiento de ambos sistemas, aumento de producción de adrenalina y endorfinas, aumento de la producción de glucocorticoides, aumento consecuente de la glicemia y la insulina, hasta que estos mecanismos se van agotando y se comienzan a generar en el animal cambios y conductas patológicas como alteración del sistema reproductivo, baja fertilidad, pérdida de peso, apatía, inactividad, automutilación, aparición de movimientos estereotipados, como dar vueltas en círculos o morder obsesivamente la rejilla de la jaula, agresividad, aislamiento, posturas dolorosas como encorvamiento, cojeras y pelaje erizado, signos faciales de dolor, orejas hacia atrás, arriscamiento del hocico y alargamiento y cierre de los ojos.

Los resultados de experimentos realizados en un animal estresado o peor en condiciones de distrés podrían estar alterados y no serán confiables, ni reproducibles.

Manejo del estrés en los animales de laboratorio

El estrés en los animales de laboratorio no se puede evitar, ya que las actividades de un Bioterio implican la manipulación, generación de ruidos, interacción con personas y otros animales. Sin embargo, se puede aminorar el estrés considerando las siguientes medidas: asegurar un macro y microambiente adecuado manteniendo condiciones ambientales dentro de los rangos normativos, para ello, se debe asegurar el buen funcionamiento los equipos de ventilación y climatización de las salas, realizando mantenciones periódicas, evitar ruidos y vibraciones innecesarias, evitar el uso de desinfectantes que produzcan olores fuertes en la sala, no gritar, ni usar perfumes, manejo de los animales por personal capacitado, supervisión constante del suministro de agua y alimento, corrigiendo cualquier desvío de manera oportuna, mantener fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad, realizar rotación de jaulas dentro del carro o rack para asegurar condiciones de iluminación adecuadas a los animales, entre muchas otras que ya se han mencionado en esta guía.

Dolor

El dolor se define como una experiencia emocional y sensitiva desagradable asociada con lesión de tejidos real o potencial. Antiguamente se pensaba que los animales no sentían dolor y se realizaba la vivisección, que es hacer disección del animal vivo sin anestesia.

Hoy se reconoce que los animales sienten dolor y se debe evitar de todas las maneras posible.

Actualmente, basado en el reconocimiento de que los seres humanos y animales poseen los mismos mecanismos neurofisiológicos del dolor, se comenzó a implementar el “principio de analogía”, en el cual se reconoce que lo que causa dolor en humanos también lo produce en animales y se deben generar medidas y manejos para evitar al máximo el dolor en los animales.

Una vez que se genera el dolor el animal modificará su comportamiento para evitarlo y se generarán respuestas automáticas, como reflejo de retracción y de defensa, como morder, arañar, chillar o generar posturas de dolor.

El animal liberará feromonas de dolor que se transmitirán al resto de la colonia, esto los mantendrá en situación de alerta y provocará estrés, por eso se recomienda que los procedimientos en los animales de laboratorio se realicen en una sala distinta de la sala de mantención donde se alojan los animales.

Para poder observar conductas de dolor es necesario conocer la conducta normal de la especie.

El dolor puede ser agudo o crónico, dependiendo de su duración.

El dolor agudo es rápido y de corta duración, por ejemplo, un golpe menor, una inoculación con producto no irritante o una leve mordedura.

El dolor crónico, al contrario, es de larga duración y mantenido en el tiempo, por ejemplo, un tumor en crecimiento que comprime algún órgano o algún tipo de inoculación que produce efectos dolorosos prolongados.

Las manifestaciones de dolor agudo y de dolor crónico son distintas.

En el caso del dolor agudo el animal adoptará postura de guardia y tenderá a huir, morder o chillar, si el dolor es de alta intensidad se va a lamer la zona de la lesión, incluso llegando a morderse o automutilarse, se mostrará inquieto, acostándose y parándose, apoyándose en un lado (el lado de la lesión), comenzará a permanecer acostado por más tiempo y tendrá resistencia a moverse. Se generarán posiciones anormales de dolor, cabeza hacia abajo, abdomen contraído y encorvamiento.

En el caso de dolor crónico el animal reducirá su actividad, presentará anorexia (falta de apetito), baja de peso, alteraciones conductuales, tenderá a esconderse o permanecer en una esquina, resistirá el movimiento, se alterará la micción y la defecación, disminuirá su higiene corporal mostrando un pelaje hirsuto y puede llegar a la automutilación en la zona de dolor.

Patologías del ratón de laboratorio

El ratón de laboratorio puede estar sujeto a condiciones adversas, infecciones, manejos inadecuados o bien por efecto de las pruebas a las que son sometidos se pueden generar distintas patologías. Antes de revisarlas, es importante revisar algunos conceptos generales para su comprensión.

Enfermedad: es la alteración del funcionamiento del organismo debido a la presencia de un microorganismo, falla del metabolismo o carencia de algún nutriente.

Infección: es el ingreso de un agente causante de enfermedad al cuerpo de un animal, que puede generar síntomas clínicos o no generarlos.

Presentación clínica: se observan signos y síntomas de una enfermedad.

Presentación subclínica (asintomática): Aunque el animal está infectado o exista algún órgano comprometido, no se observan signos, ni síntomas y aparentemente se ve sano. La mayoría de las infecciones del ratón de laboratorio son subclínicas o inaparentes.

Zoonosis: Enfermedades que se transmiten de los animales a las personas y viceversa.

Las enfermedades en los animales de laboratorio pueden provocar mortalidad o pérdidas productivas, elevar los costos de producción, alterar la funcionalidad de los órganos y el estado inmunitario del animal, pudiendo llegar a producir interferencia experimental en mayor o menor grado, alterando o invalidando sus resultados.

Patologías bacterianas

Salmonellosis

Puede afectar varias especies como ratón, rata, conejos, cobayos y también al ser humano, por lo tanto, es una zoonosis.

Agente etiológico: *Salmonella enteritidis*.

Distribución mundial, brotes en colonias convencionales.

Transmisión: oro-fecal, es decir por el consumo de heces contaminadas que pueden contaminar el alimento, agua o material de alojamiento.

Signología: en el ratón la presentación es principalmente subclínica, en destetados y débiles se ven signos como muerte súbita, diarrea, períodos alternados de latencia y enfermedad, abortos, infertilidad y presencia de portadores sanos. Baja fertilidad en la colonia.

Diagnóstico: se puede realizar a través de hallazgos patológicos en la necropsia, como puntillado blanco en hígado, también por cultivo de muestras de heces, histopatología y serotipificación.

Control: dependiendo de la difusión de la enfermedad y del número de casos, se recomienda la despolución de la colonia, desinfección completa y reintegro de animales nuevos con test negativo, aplicación de barreras sanitarias y monitoreos frecuentes, sin embargo, en caso de uso de racks ventilados en bioterios SPF o en animales de alto valor, se puede realizar detección de casos positivos, aislamiento y derivación por cesárea.

Furúnculosis estafilocócica

Puede afectar varias especies como el ratón, rata, conejo y cobayo.

Agente etiológico: *Staphylococcus aureus*.

Cuadro clínico: Esta es una bacteria comensal en la piel, que contamina heridas por traumas o por acción de mordeduras o lesiones provocadas por ectoparásitos. Afecta los folículos pilosos y puede formar abscesos profundos. Se caracteriza por la aparición de nódulos inflamatorios y supurantes que pueden evolucionar a una agrupación de furúnculos y lesiones más extensas en la piel.

Diagnóstico: se basa en el examen clínico y el cultivo de muestras de las lesiones.

Tratamiento: suele implicar antibióticos y se realiza sólo en el caso de animales de alto valor experimental.

Patologías virales

Hepatitis viral murina

Etiología: Coronavirus (Mouse Hepatitis Virus MHV).

Distribución mundial, altamente contagiosa, principalmente en colonias convencionales. Genera animales inmunocompetentes.

Transmisión: vía oro-fecal, aerosoles, fómites.

Signología: diarrea color mostaza en lactantes, puede ser de alta mortalidad o generación de ballicos, que son animales con bajo peso y bajo crecimiento.

Diagnóstico: signos clínicos, serología y hallazgos en la necropsia como focos necróticos hepáticos.

Control: dependiendo de la difusión de la enfermedad y del número de casos, se recomienda la despolución de la colonia, desinfección completa y reintegro de animales nuevos con test negativo, aplicación de barreras sanitarias y monitoreos frecuentes, sin embargo, en caso de uso de racks ventilados en bioterios SPF o en animales de alto valor, se puede realizar detección de casos positivos, aislamiento y derivación por cesárea.

Coriomeningitis linfocítica

Puede afectar al ratón de manera subclínica y es una zoonosis.

Etiología: arenavirus.

Distribución mundial, altamente contagiosa en animales convencionales.

Transmisión: los animales se contagian de manera congénita en el útero. En el caso de las personas, el virus se puede contraer por contacto directo con orina, saliva o mordedura del ratón.

Signología: En el ratón es subclínica. En humanos cuadro febril inicial, luego meningitis y encefalitis. Es de muy baja mortalidad (1%).

Diagnóstico: histopatología y serología.

Control: dependiendo de la difusión de la enfermedad y del número de casos, se recomienda la despo- blación de la colonia, desinfección completa y reintegro de animales nuevos con test negativo, aplica- ción de barreras sanitarias y monitoreos frecuentes, sin embargo, en caso de uso de racks ventilados en bioterios SPF o en animales de alto valor, se puede realizar detección de casos negativos, aislamiento y derivación por cesárea.

Ectromelia

Etiología: poxvirus.

Distribución mundial, altamente contagiosa.

Transmisión: aerógena, contacto directo con orina, heces, fómites (objetos infectados).

Signología aguda: alta mortalidad, postura encorvada, conjuntivitis, artritis.

Signología crónica: lesiones necróticas en la piel y extremidades.

Diagnóstico: signos clínicos, serología, inoculación en huevos embrionados.

Control: dependiendo de la difusión de la enfermedad y del número de casos, se recomienda la despo- blación de la colonia, desinfección completa y reintegro de animales nuevos con test negativo, aplica- ción de barreras sanitarias y monitoreos frecuentes, sin embargo, en caso de uso de racks ventilados en bioterios SPF o en animales de alto valor, se puede realizar detección de casos positivos, aislamiento y derivación por cesárea.

Parvovirus murino

Etiología: parvovirus.

Distribución mundial. Es de importancia para la investigación ya que puede provocar interferencia en los resultados.

Transmisión: aerógena, contacto directo con orina, heces, fómites.

El virus presenta alta resistencia a los desinfectantes.

Signología: No hay.

Diagnóstico: serología.

Control: dependiendo de la difusión de la enfermedad y del número de casos, se recomienda la despo- blación de la colonia, desinfección completa y reintegro de animales nuevos con test negativo, aplica- ción de barreras sanitarias y monitoreos frecuentes, sin embargo, en caso de uso de racks ventilados en bioterios SPF o en animales de alto valor, se puede realizar detección de casos positivos, aislamiento y derivación por cesárea.

Otras virosis murinas son adenovirus, pneumoniavirus, virus kilham, rotavirus, reovirus, leucemia mu- rina, virus theiler, hantavirus, virus diminuto y poliomavirus algunos de ellos de alto impacto en inter- ferencia experimental. Dependiendo de la investigación donde se usarán los animales y el impacto de cada agente en la investigación, se debe solicitar certificado de negatividad.

Patologías misceláneas

Barbering

No es una patología propiamente tal, sino una expresión etológica de los ratones, donde uno de los ratones quita pelaje al resto del grupo, dejándoles zonas depiladas, generando impacto sobre su bienestar y la fiabilidad de los resultados de la investigación.

Se identifican múltiples causas, como deficiencias en el enriquecimiento ambiental, alteraciones de manejo, estrés, conductas aprendidas, ansiedad y dominancia, así como causas genéticas haciendo que algunas cepas y modelos genéticamente modificados sean más susceptibles al barbering. Dado que el barbering también afecta las vibrisas, y estas son fundamentales para los ratones a nivel sensorial, esta conducta representa una alteración sobre otros comportamientos como, por ejemplo, el desempeño en tareas de alimentación con consecuente disminución de peso, evasión de depredadores, fallas en la cópula y en diversas interacciones sociales.

Tiene una fuerte relación con el estrés provocado por condiciones ambientales deficientes, por lo que el manejo de estas condiciones es esencial para evitar su presentación, como también el uso de materiales y herramientas para el enriquecimiento ambiental.

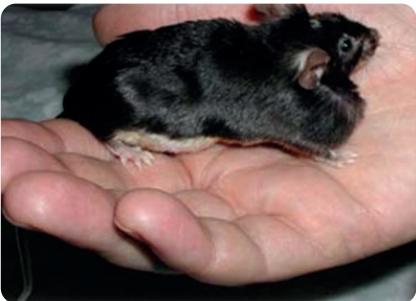


Barbering



Cola quebrada o kinky tail

Es un cuadro donde la cola presenta quiebres y desviaciones. Su causa es genética. No produce efectos adversos en el ratón.

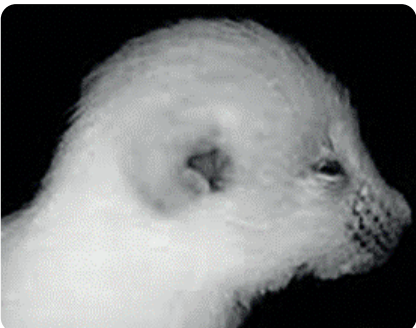


Neoplasias o tumores

Se pueden presentar en diversas ubicaciones, algunos de muy rápido crecimiento, especialmente tumores mamarios en las hembras reproductoras de avanzada edad.

En estos casos se debe realizar eutanasia y si la hembra se encuentra con crías menores a 10 días de edad se puede derivar la camada a hembras nodrizas.

Para el caso de la presencia de tumores, se consideran criterios de eutanasia que un tumor cause más del 10% de la pérdida de peso corporal, si el tumor supera 1.0 cm de diámetro y/o si hay signos de ulceración, deformidad o compromiso de la función del animal.



Hidrocefalia

Principalmente se da en ratones de la cepa C57BL6 (cepa consanguínea), debido a una alteración congénita del desarrollo del encéfalo. Está asociada en la misma cepa a presencia de microftalmia, que es una alteración del crecimiento de los ojos.

Enfermedades parasitarias

En los bioterios generalmente se presentan cuando hay deficiencias en las barreras sanitarias, por ello, son más comunes en ratones convencionales que en SPF.

La mayoría no producen signología en los animales, salvo en ratones destetados, débiles o estresados.

Algunas de ellas son zoonóticas, por lo que requieren medidas más exhaustivas de control.

Así como las patologías virales y las bacterianas, las parasitarias también pueden producir interferencia en la investigación.

El diagnóstico se realiza a través de exámenes coproparasitarios (observación de huevos), análisis de pelo y escamas, observación de parásitos macroscópicos y también a través de serología.

Para su control es importante aplicar barreras sanitarias y monitoreos seriados.

La mayoría de los casos tienen tratamiento, sin embargo, según las condiciones de las instalaciones y de las características del tipo de producción, son difíciles de erradicar.

Ectoparásitos

Sarna

Etiología: la sarna es producida por ácaros y son especie específicos, es decir, cada especie animal tiene sus propios ácaros y no se transiten entre una especie y otra. En el caso del ratón los ácaros que producen la sarna son *Myocoptes musculinus*, *Myobia musculi* y *Radfordia affinis*.

Signología: prurito, alopecia, eritema cutáneo, costras y heridas.

Entre las cepas más sensibles, están las consanguíneas, debido a que tienen menor inmunidad, por ejemplo, la cepa C57BL6 es muy susceptible.

Tratamiento: Se puede aplicar ivermectina o selamectina.

Control: Aplicación de barreras sanitarias, por ejemplo, autoclavar la viruta e impedir el ingreso de roedores silvestres a la colonia.

Pediculosis

Etiología: la pediculosis en el ratón es producida por el piojo *Poliplax serrata*. Esta infección también es especie específica.

Signología: Los piojos se alimentan de sangre, por lo que en infestaciones masivas se puede producir anemia y pérdida de peso. Se caracteriza por producir prurito intenso y tanto los parásitos como sus huevos (liendres) se observan de manera macroscópica. La ubicación de las lesiones es principalmente en la zona dorsal.

Tratamiento: Se puede aplicar ivermectina o selamectina.

Control: Aplicación de barreras sanitarias, por ejemplo, autoclavar la viruta e impedir el ingreso de roedores silvestres a la colonia.

Endoparásitos

Oxyurosis

Etiología: *Syphacia obvelata* y *Aspicularis tetraptera* en el ratón.

Transmisión: Ingestión directa de huevos al lamerse el cuerpo o a través de objetos contaminados.

Se alojan en intestino grueso y ciego. Los animales adultos se hacen resistentes y pueden convivir con el parásito.

Signología: el cuadro es subclínico, sin embargo, puede haber disminución de la ganancia diaria de peso y abultamiento abdominal.

Diagnóstico: Test Graham, coproparasitarios o microscópico directo de muestra de contenido cecal.

Teniasis

Etiología: *Hymenolepis nana*.

Transmisión: Ingestión directa de huevos al lamerse, objetos contaminados, ingestión de artrópodos (pulgas).

Se alojan en intestino grueso. Los animales adultos se hacen resistentes y pueden convivir con el parásito.

Signología: En grandes infestaciones puede provocar oclusión intestinal y desnutrición.

ZOONOSIS: diarrea, dolor gástrico, prurito anal.

Diagnóstico: coproparasitarios o microscópico directo de muestra de contenido cecal.

Protozoos del ratón

Cryptosporidium muris

Es un microorganismo comensal que se adhiere a la mucosa del estómago y generalmente presenta una patogenicidad limitada en los ratones inmunocompetentes, pero puede ser patógeno en animales inmunodeprimidos o jóvenes con infestaciones severas.

Giardia muris

Es un protozoo que infecta el intestino delgado de los ratones, transmitiéndose por la ingestión de quistes presentes en heces contaminadas. Mayoritariamente el cuadro es asintomático, sin embargo, en ratones inmunodeprimidos puede llegar a ser grave, en este caso los síntomas son diarrea, pérdida de peso, pelaje áspero y letargo. Su presencia es común en bioterios convencionales.

Spironucleus muris

Es un protozoo flagelado común en el intestino delgado de ratones, aunque generalmente es asintomático en adultos sanos, afecta más severamente a ratones jóvenes e inmunodeprimidos, causando pérdida de peso, pelaje descuidado y diarrea, pudiendo ser fatal en casos graves.

Tratamiento antiparasitario interno y externo

Para el tratamiento de parásitos internos y externos existen distintos fármacos antiparasitarios, la mayoría con presentaciones adecuadas para especies de tamaño mayor que el ratón y dosificados para tratamiento individual, no para ser aplicado colectivamente a una colonia de animales.

Se recomienda el uso de ivermectina, sin embargo, puede ser tóxica en algunas cepas de ratones, especialmente la cepa CF1, debido a la falta de la glicoproteína P en intestino delgado y capilares cerebrales y pueden presentar convulsiones por sobredosis.

Pese a lo anterior, se ha utilizado con éxito el tratamiento por aspersión de ivermectina al 2,5 % (25 mL de ivermectina al 1% en 975 mL de agua destilada) para el tratamiento y control de parásitos internos y externos, aplicando la solución con aspersor directo a los animales. No más de dos aspersiones por jaula. Se puede aplicar cada 2 semanas por 3 a 4 veces o según necesidad y monitorear una vez finalizado el tratamiento, con examen coproparasitario o macroscópico directo en el laboratorio del Bioterio.

Bioseguridad

Definición y objetivos de bioseguridad

Definición según la Organización Mundial de la Salud: Es el término utilizado para referirse a los principios, técnicas y prácticas aplicadas con el fin de evitar la exposición no intencional a patógenos y toxinas, o su liberación accidental.

La palabra Bioseguridad se podría traducir o interpretar como seguridad para la vida y aunque se aplica al ámbito laboral, también se puede extrapolar a otras situaciones extra laborales, ya que son los mismos principios para prevenir y evitar riesgos de accidentes.

El objetivo de un programa de bioseguridad es evitar los riesgos y accidentes, protegiendo a los trabajadores, animales y medio ambiente.

La importancia de prevenir accidentes laborales, es que su ocurrencia conlleva ausentismo laboral, baja productividad, sobrecargas laborales y discapacidad laboral, incluso la muerte.

Para realizar un programa de bioseguridad se debe realizar primero un buen diagnóstico de los riesgos presentes en el trabajo del bioterio o laboratorio.

Los riesgos se pueden clasificar en físicos, químicos y biológicos.

Riesgos físicos.

Incluyen exposición a calor, frío, radiaciones, vibraciones, ruidos, presiones anormales, humedad, heridas, mordeduras, arañazos, patada. En este sentido se incluyen los riesgos de tipo ergonómico, como, por ejemplo, malas posturas, caídas, mal estado del mobiliario, fuerzas mal hechas y accidentes cortopunzantes.

Riesgos químicos.

Incluyen mal uso de desinfectantes por dosis inadecuadas, falta de protección, mezclas indebidas de reactivos, uso de reactivos peligrosos.

Riesgos Biológicos.

Incluye la transmisión de agentes infecciosos por contacto directo con animales (mordeduras, arañazos), inoculaciones, salpicaduras, aerosoles y alergias a productos de animales (orina, pelos, etc).

Se debe realizar un diagnóstico de las brechas en cuanto a infraestructura y capacitación del personal respecto de los riesgos asociados al laboratorio.

Entre los procedimientos más riesgosos en los bioterios se pueden mencionar manipulación de animales que pueden implicar mordeduras o arañazos, realización de necropsias de animales contaminados, toma de muestras, auto inoculaciones, marcajes y procedimientos invasivos hacia los animales.

Para que el personal esté actualizado en los aspectos de bioseguridad, se deben realizar capacitaciones frecuentes y reforzar conductas preventivas en el ámbito laboral.

Se debe garantizar que las medidas de prevención sean implementadas por la institución y lograr el compromiso del personal en el cumplimiento de dichas medidas.

Se debe dar a conocer al personal los riesgos a los cuales está sometido y dejar documentado con un registro de consentimiento.

Medidas de bioseguridad para evitar riesgos de accidentes y exposición a materiales peligrosos

Algunas medidas generales de bioseguridad que se pueden implementar en los bioterios son:

Uso correcto de elementos de protección personal (guantes, mascarillas, gorro desechable, antiparras). Uso de ropa y calzado exclusivo de trabajo.

Accesos controlados a la instalación.

Barreras sanitarias para evitar la salida de agentes infecciosos fuera de la instalación, como, por ejemplo, descontaminación de desechos, presión negativa en las salas con animales contaminados y filtro HEPA en el ducto de salida de aire de esas salas.

Buenas prácticas de laboratorio (Lavado de manos, no comer, fumar, ni beber dentro de los laboratorios, desinfectar los mesones).

Uso de racks ventilados para aislar animales infectados y filtrar el aire que sale a la sala.

Medicina preventiva (controles médicos periódicos, aplicación de vacunas).

Niveles de bioseguridad animal

Existen 4 niveles de Bioseguridad Animal. Se clasifican según la evaluación del riesgo y el grupo de riesgo al que pertenecen los microorganismos investigados.

El nivel 1 es de baja complejidad y el nivel 4 es de alta complejidad.

La complejidad está dada por los microorganismos presentes en la instalación, por ejemplo, en bioterios de producción no existen agentes que produzcan enfermedades graves, por lo tanto, se deben tomar medidas simples para evitar los riesgos, pero en bioterios donde se trabaja con agentes peligrosos se deben tomar mayor cantidad de medidas de prevención y de mayor complejidad.

Nivel de bioseguridad animal 1

Es de bajo riesgo. Aplica para bioterios de producción y laboratorios que trabajan sin agentes infecciosos o microorganismos de bajo riesgo de infección.

Se deben implementar las Buenas Prácticas de Laboratorio: uso de delantal o ropa de trabajo, uso de guantes, gorra y mascarilla, lavado de manos al salir y entrar a la sala.

Prohibición de comer, fumar, beber líquidos dentro de las salas.

Acceso restringido a las dependencias.

Instalar señalética de riesgo biológico.

Vigilancia médica de los trabajadores.

Todo el personal debe estar vacunado contra el tétanos, ya que esta enfermedad se transmite por la mordedura de los animales.

Nivel de bioseguridad animal 2

Es de riesgo moderado. Aplica para bioterios que alojan animales infectados con microorganismos patógenos que causan enfermedad en humanos como, por ejemplo, virus de la inmunodeficiencia adquirida, virus de hepatitis C, Salmonella sp, cuya transmisión no es por aerosoles (vía aérea) y que tienen tratamientos preventivos (vacunas) y/o curativos.

Se deben utilizar las mismas medidas del nivel de bioseguridad 1 más las siguientes:

Acceso restringido y controlado a las dependencias.

Los animales sólo se deben manipular dentro de cabinas de seguridad biológica con presión negativa y filtración de aire de salida por filtro HEPA.

El personal debe bañarse antes de salir del Bioterio.

El material de alojamiento de animales se debe eliminar de forma tal que genere los mínimos aerosoles y polvo.

Todos los materiales de desecho y de las camas deben descontaminarse en autoclaves antes de su eliminación.

Uso restringido de elementos cortopunzantes. Se reemplaza el vidrio por plásticos.

Todos los animales muertos se deben incinerar.

Se debe usar buzo Tyvek® o similar desechable.

Nivel de bioseguridad animal 3

Es de riesgo alto. Aplica a bioterios que tienen animales infectados con agentes altamente contagiosos, que causan enfermedad grave en animales y humanos, se transmiten por aerosoles, se previenen por vacunas y tienen tratamientos curativos, por ejemplo, Mycobacterium tuberculosis, virus de la influenza aviar, Yersinia pestis y virus hanta.

Se deben utilizar las mismas medidas del nivel de bioseguridad 2 más las siguientes:

Deben existir autoclaves dentro de las salas para descontaminar todo lo que sale de la sala.

Presión negativa en todas las áreas con animales. El aire de salida pasa por filtros HEPA.

Los animales deben estar alojados en rack ventilados.

Se utiliza un tipo de traje especial que evite el contacto de la piel con el ambiente de la sala.

Las ventanas estarán herméticamente cerradas y serán resistentes a la rotura.

El personal debe vacunarse contra los agentes que poseen los animales.

Nivel de bioseguridad animal 4

Es de riesgo alto y peligroso. Aplica a bioterios que tienen animales infectados con agentes que producen enfermedades graves y de alta mortalidad en animales y humanos, no tienen vacunas ni tratamientos curativos, ejemplo, virus ébola y virus de la viruela.

Se aplican las medidas de nivel de bioseguridad 3 más las siguientes:

Uso de trajes con presión positiva, es decir, poseen inyección de aire de manera que se impide el ingreso del aire de la sala o laboratorio al interior del traje.

Deben existir Autoclaves de doble puerta.

Vigilancia de la salud completa de los trabajadores.

Ninguna persona trabaja sola.

Debe trabajar sólo personal altamente capacitado y entrenado.

Se usan cabinas de seguridad biológica de mayor contención.

Deben existir máximas barreras de contención.

Todos los desechos y el material de las cajas de los animales se tratarán en una autoclave antes de sacarlos del laboratorio.

Accidentes más comunes en los bioterios

Lesiones causadas por animales (rasguños, mordedura, etc.).

Cortes por cajas, rejillas, etc.

Caídas por pisos resbaladizos.

Lesiones musculoesqueléticas por levantar objetos pesados incorrectamente.

Lesiones en ojos y piel por uso incorrecto de sustancias químicas.

Auto inoculación por recapsulamiento de la aguja

Recomendaciones

Avisar cualquier situación de riesgo y accidente.

Separar los materiales defectuosos o en malas condiciones (carros, jaulas en mal estado).

No colocar materiales en los carros de transporte o en pasillos que perjudiquen la visibilidad.

Estar siempre atento, no escuchar música, ni conversar cuando se está manipulando o inoculando animales.

No realizar actividades peligrosas o de alto riesgo de accidentes para las cuales no se está capacitado o no se siente seguro.

No recapsular agujas. Se deben eliminar directamente después de usarlas en contenedores para material corto punzante.

Usar ropa de trabajo exclusiva en el trabajo con animales.

Dejar la ropa de trabajo en el bioterio para no exponer a personas externas con la ropa contaminada o con alérgenos.

Usar siempre y correctamente los elementos de protección personal (guantes, gorro, mascarillas).

Todos los trabajadores deben estar capacitados en la manipulación correcta de los animales para su seguridad y su salud propia como también de los animales.

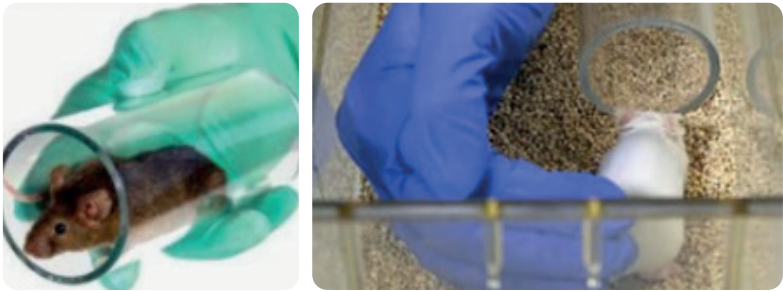
Mantener al día vacunación del personal con vacuna antitetánica y todas aquellas que prevengan infecciones para los agentes que se trabajan en el laboratorio.

Manipulación

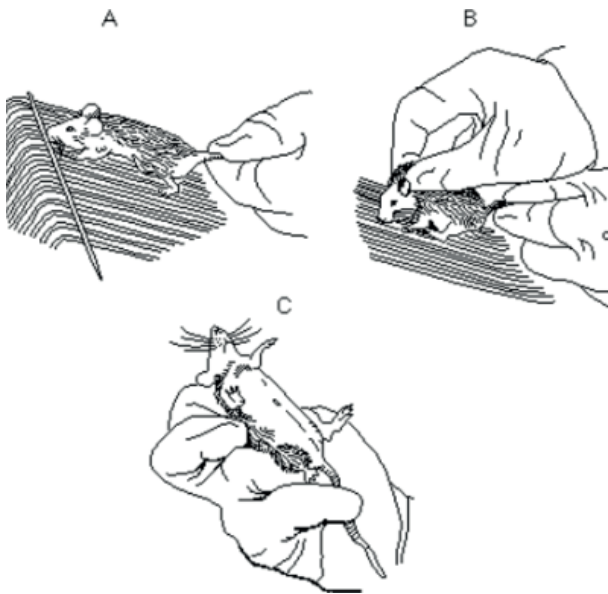
La correcta manipulación o sujeción de los ratones de laboratorio permite sostener e inmovilizar el animal para facilitar su manejo y/o aplicación de muestras con el mínimo stress, posibilidad de daño al ejemplar y evitar accidentes laborales. Al momento de manipular los roedores el personal debe estar en un ambiente tranquilo.

La forma más común de manipular los ratones es:

- Por la cola, sosteniendo con la mano
- Con apoyo de la rejilla
- Con un tubo de cartón o acrílico, esta es la forma más recomendada (Tube o tunnel handling)



Tube o tunnel handling



Inyección intraperitoneal

Esta vía de inyección es una de las más utilizadas para la inoculación en ratones de laboratorio como, por ejemplo, en la prueba del bioensayo. Es importante tomar en cuenta algunas consideraciones previas antes de explicar la técnica.

Anatómicamente, en el abdomen del ratón se encuentran órganos como intestino delgado y grueso, colon, ciego, recto, riñones, vejiga, útero en hembras, hígado, bazo y estómago, los cuales podrían ser puncionados si la técnica no se aplica correctamente.

Consideraciones para el operador

El operador debe estar capacitado para realizar la inyección intraperitoneal. Al momento de la inoculación debe estar tranquilo y seguro. La operación debe ser silenciosa.

Previo a la inyección tener listos los animales marcados, implementos y jaulas de destino (identificadas). El mesón de trabajo debe estar ordenado y desinfectado.

Para inyecciones peligrosas que puedan generar aerosoles se debe proceder dentro de una Cabina de Bioseguridad. Es obligatorio el uso de guantes, mascarilla y gorro, junto con ropa de trabajo.

Consideraciones sobre los insumos a utilizar

Siempre utilizar jeringas y agujas estériles. Utilizar una sola aguja por ratón.

La aguja pierde filo al ser utilizada, por lo que debe ser utilizada por única vez, si se usa más de una vez provocará dolor al momento de la inoculación.

Se debe utilizar una aguja lo más fina posible. Para ratón se recomienda 25 G o 27 G.

Técnica

Cargar la jeringa y la aguja con el volumen adecuado a inyectar.

Sujetar de forma segura al animal en decúbito dorsal con la cabeza ligeramente inclinada hacia abajo para proporcionar una visión clara del abdomen.

Desinfectar la zona con alcohol al 70%, a menos que la prueba dure muy poco tiempo y no alcance a verse el efecto de una infección.

Inyectar un tercio de la aguja con bisel hacia arriba, en ángulo inclinado (45°) respecto al abdomen, en zona inguinal o medial. En zona medial se puede levantar levemente la aguja, una vez introducida, para asegurarse que está dentro de la cavidad abdominal.

Aspirar levemente, si se observa algún líquido, se debe detener la inoculación y volver a cargar la jeringa con una nueva aguja e intentar nuevamente.

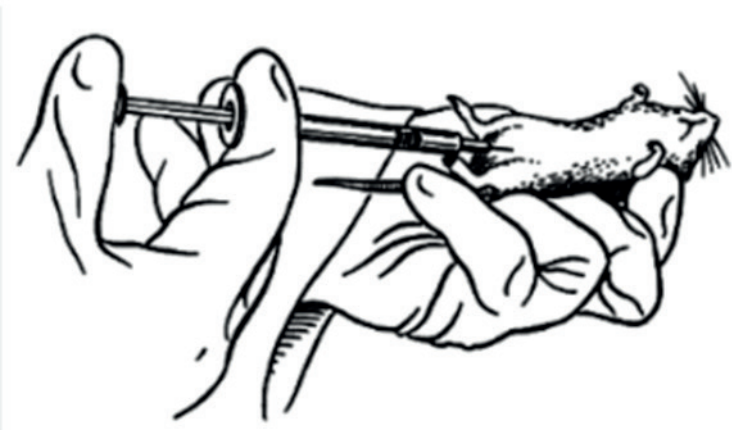
Después de asegurar la colocación correcta, inyectar.

La inyección debe ser rápida para que el animal esté sujeto el menor tiempo posible.

El líquido debe caer a la cavidad abdominal, por lo tanto, no hay problema que sea rápido (no así inyección endovenosa, que debe ser lenta).

Volúmenes óptimos para inyección intraperitoneal son:

Peso animal (g)	Volumen (mL)
25	0,5
20	0,4



Inyección intraperitoneal

Problemas en la inyección intraperitoneal

Problemas por mala inoculación

Inocular un órgano abdominal. (lesión según el órgano dañado o hemorragia).

Inocular fuera de la cavidad abdominal (inyección subcutánea o percutánea)

Injectar cantidad insuficiente o excesiva de inóculo.

Muerte del animal.

Problemas por causa del operador

Mala manipulación y sujeción.

Mordedura (animal estresado).

Maltrato del animal.

Personal no capacitado.

Causas de la Prueba.

Mala preparación del inóculo.

Insumos inadecuados

Los problemas en las pruebas pueden traer como consecuencia resultados erróneos o poco confiables.

Eutanasia

Definición

La palabra eutanasia proviene del griego, de las palabras eu, que significa “bien” o “bueno”, y thánatos, que significa “muerte”. Por lo tanto, su significado etimológico es “buena muerte”. Es el método humanitario de muerte que debe producir el menor sufrimiento posible (dolor, angustia y miedo), rápida pérdida de conciencia, seguido por el cese de la función cardíaca, respiratoria y finalmente cerebral.

En los bioterios se debe aplicar en los siguientes casos:

Al finalizar un experimento, cuando se requiere órganos, tejidos o sangre con fines científicos, cuando los niveles de dolor, angustia y sufrimiento sobrepasen el nivel previsto, cuando ya no sean aptos para la cría o investigación (edad, sexo, estatus genético), cuando se generan excedentes de producción.

Un método ideal de eutanasia debe ser indoloro, producir rápida inconsciencia y muerte, que requiera mínima manipulación e inmovilización del animal, apropiado para la edad, especie y salud del animal, no provocar miedo y estrés al animal, confiable y reproducible, irreversible, sencillo de administrar (en una sola dosis y lo más pequeña posible), seguro y de bajo impacto emocional para el operador.

Consideraciones para eutanasia en ratones de laboratorio

Se debe minimizar al máximo el estrés del animal, evitando ruidos y movimientos bruscos durante el traslado al lugar de la eutanasia, en lo posible se debe realizar la eutanasia en la misma jaula, sin manipularlos para cambiarlos de jaula o reagruparlos con otros animales. Se deben evitar esperas visuales mientras se realiza un proceso de eutanasia de otros animales, ya que se generan feromonas y vocalizaciones que alteran a los animales.

Un dato importante es que la inconsciencia en los animales se evidencia en la falta de reflejo para incorporarse, es decir, cuando el animal pone su cabeza en el piso de la jaula o ya no se puede mover.

La inconsciencia se puede alcanzar antes de la presencia de reflejos de movilidad, como por ejemplo, aumento de la frecuencia respiratoria o movimientos reflejos de miembros anteriores o posteriores.

Según la guía de eutanasia de la Asociación de Médicos Veterinarios de América (AVMA, versión 2020) se indican los métodos aceptables, aceptables con condiciones y no aceptables para eutanasia de pequeños roedores.

Métodos aceptables

Barbitúricos y derivados del ácido barbitúrico:

Los barbitúricos inyectables y sus combinaciones generalmente actúan de forma rápida y suave para dejar inconscientes a los roedores. La dosis de eutanasia suele ser tres veces la dosis del anestésico. El pentobarbital es el barbitúrico más utilizado para roedores de laboratorio debido a su larga vida útil y rapidez de acción. La desventaja es que se debe manipular al animal e inyectarlo y los barbitúricos producen dolor en la inyección intraperitoneal, sin embargo, aún no se ha definido el grado de dolor, ni un método para controlarlo.

Métodos aceptables con condiciones

Agentes inhalatorios

Los anestésicos inhalatorios halotano, isoflurano, sevoflurano o desflurano, con o sin óxido nitroso, son aceptables con condiciones para la eutanasia de roedores de laboratorio. No requiere manipulación del animal, por lo que estos agentes pueden ser útiles en casos donde la restricción física es difícil o poco práctica. Cuando se utiliza como único agente de eutanasia, administrado mediante vaporizador para la inducción anestésica y la sobredosis, los animales pueden necesitar estar expuestos durante períodos prolongados para asegurar su muerte. Se puede mejorar la rapidez del proceso de muerte cuando se utiliza la técnica de gota abierta, pero se debe tener cuidado para asegurar que el roedor no entre en contacto directo con el anestésico.

Inhalación de CO₂

Las ventajas de este método son que no requiere manipulación del animal y el proceso se puede realizar colocando la jaula donde se encuentra el animal dentro de la cámara, es un proceso silencioso y casi imperceptible para el animal, la inconciencia se produce de manera gradual.

Dentro de las desventajas se pueden mencionar que produce mediana a lenta inconciencia, se debe regular bien el flujo de oxígeno y CO₂, para que el cambio de niveles de uno no sea brusco, sino gradual, de lo contrario puede sufrir asfixia antes de la inconciencia.

La cámara debe tener un sistema de extracción de CO₂, de manera que una vez terminado el proceso la cámara extraiga todo el CO₂ y quede llena de oxígeno, sólo así se puede volver a cargar inmediatamente con animales, sino el CO₂ residual provocará irritación de las fosas nasales y asfixia.

Se puede asegurar la muerte de los animales, una vez terminado el proceso realizando dislocación cervical.

Se recomienda, además, la instalación de un calentador de aire asociado a la salida del CO₂, ya que el CO₂ del cilindro está a muy baja temperatura y su contacto directo con los animales genera impactos negativos.

Se deben contemplar medidas de fijación del cilindro de CO₂ a la pared o bien alojar los cilindros en una caseta techada fuera de la sala.

Cámara de CO₂ automatizada.

Son equipos que regulan el ingreso y salida de gases de la cámara de forma automatizada y permiten la programación de distintos ciclos según necesidad, por lo que no depende de la manipulación por parte del operador. El proceso tiene tres fases. En la primera fase ingresa el CO₂ y sale el oxígeno de la cámara, la segunda es la fase de latencia, donde el equipo detiene el ingreso de CO₂ para dejar la cámara saturada y la tercera fase es de extracción del CO₂ e ingreso de oxígeno, de manera que al terminar la cámara esté saturada de O₂ y queda lista para recibir nuevos animales. El ingreso del CO₂ es homogéneo, ya que ingresa en cascada por varios orificios que se encuentran dispuestos en línea a lo ancho de la cámara. Se pueden programar distintos ciclos para ratones de distintas edades y pesos que requieran una exposición distinta de CO₂ o distintos tiempos de las 3 fases. Existen distintos tipos de tamaños de cámara o sistemas según las necesidades, en algunos casos se trata de tapas de jaula para aplicar a una sola jaula o bien a un número mayor, pero manteniendo la automatización del proceso. La mantención de estos equipos se debe realizar al menos una vez al año.



Cámara de eutanasia por saturación de CO₂

Métodos físicos

Dislocación cervical

- Ventajas: no requiere equipo especial, ni transporte del animal y produce tejidos no contaminados por agentes químicos. La pérdida de la función cortical y de la conciencia tras la dislocación cervical es rápida y ocurre en un plazo de 5 a 10 segundos. Sin embargo, requiere destreza del operador el cual debe recibir formación sobre animales muertos para demostrar su competencia.
- Desventajas: requiere la sujeción y manipulación del ratón, lo que genera estrés y, por otro lado, produce un impacto negativo en el operador y se corre el riesgo que sea un proceso muy doloroso si no se realiza correctamente.

Decapitación

La decapitación se utiliza en el laboratorio porque produce tejidos no contaminados por agentes químicos. La ventaja es que es un método muy rápido, la pérdida de la función cortical tras la decapitación se produce en un plazo de 5 a 30 segundos. Requiere el uso de guillotinas especializadas para roedores que deben mantenerse limpias, en buen estado y con cuchillas afiladas. La desventaja es el alto impacto negativo para el operador y que requiere sujeción del animal. El personal debe recibir formación sobre animales muertos para demostrar su competencia.

Métodos no aceptables

Agentes inhalatorios como nitrógeno, argón, éter y cloroformo son muy irritantes y producen dolor en fosas nasales, además de ser peligrosos para el operador por ser inflamables y de potencial cancerígeno.

Transporte de animales de laboratorio

El transporte de animales de laboratorio puede ser necesario para realizar las pruebas a las que serán sometidos, ya sea dentro de la misma dependencia (de una sala a otra), entre departamentos de una misma institución o bien fuera de la institución.

El transporte producirá inevitablemente estrés en los animales, pues serán expuestos a movimientos, ruidos, vibraciones, luces, calor, frío, etc. que están fuera de su rutina diaria y fuera de su control y deberá generar mecanismos de adaptación para asimilar estos cambios. Lo importante es realizarlo de manera adecuada para minimizar el estrés.

Fases del transporte

El transporte de animales tiene 3 fases: pre-embarque, intermodal y post-embarque.

Pre-embarque

Comprende las actividades realizadas desde la preparación, ingreso a la jaula de transporte y traslado al medio de transporte. Se debe procurar que los animales viajen en lo posible en las mismas jaulas en que están alojando, si esto no es posible, se debe evitar juntar grupos distintos de animales. Se debe ser cuidadoso en el transporte desde la sala al medio de transporte, si va a ser sobre un carro con ruedas, se deben evitar los movimientos bruscos y ruidos agudos.

Intermodal

Comprende las actividades ocurridas durante el transporte del lugar de origen al lugar de destino. Es la etapa de mayor impacto, la que genera más stress. Procurar que el medio de transporte sea climatizado para proporcionar temperaturas termoneutrales para la especie (ratón 20 a 26°C). en el caso de transporte aéreo la cabina debe ser presurizada para asegurar el suministro de oxígeno durante el viaje.

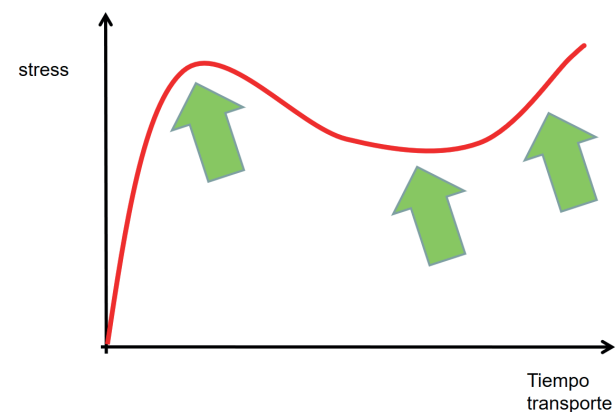
Post-embarque

Comprende las actividades realizadas desde la salida del medio de transporte al ingreso de su nuevo alojamiento. Requiere cuarentena en algunos casos y supervisión. Acá se debe considerar el periodo de aclimatación, que es el periodo en que el animal se adapta a su nuevo alojamiento.

Factores que afectan a los animales durante el transporte

- Temperatura externa fuera del rango termoneutral de la especie.
- Tipo de jaula de transporte.
- Densidad de animales excesiva o inferior a lo recomendado.
- Mala manipulación de los embalajes.
- Imprevistos y emergencias.

**Efecto durante el transporte
(etapa intermodal)**



Efectos del transporte

Se genera un estrés agudo pasajero antes, durante y posterior al transporte que se termina cuando las condiciones vuelven a ser rutinarias y el animal se logra adaptar nuevamente a su nuevo hábitat. Esto se llama periodo de aclimatación.

Existe un efecto que puede perdurar hasta 7 días en alteración del ciclo estral y adaptación del sistema endocrino e inmune.

En 1 a 2 días después del transporte hay recuperación fisiológica, es decir, se recupera la frecuencia cardíaca, respiratoria y temperatura corporal, por lo tanto, ese debería ser el periodo de adaptación a las nuevas dependencias después del transporte, antes de eso no realizar pruebas, ya que si el animal está estresado los resultados no serán confiables.

Este tiempo de adaptación puede variar según duración y tipo de transporte, especie, cepa y estado fisiológico.

Por lo anterior, se recomienda un periodo de aclimatación de 2 a 7 días después del transporte, dependiendo de las pruebas y sistemas afectados.

Jaula de transporte

Uno de los factores importantes para un buen transporte es la jaula o contenedor donde serán trasladados los animales. Deben tener las siguientes características para asegurar un buen traslado:

- Debe ser firme, contener de forma confortable a los animales.
- Contar con orificios para ventilación.
- Su interior debe ser libre de protrusiones y filos.
- Si el material de la jaula se puede roer debe estar recubierto de malla metálica para evitar fuga de animales.
- Debe ser de fácil manipulación.
- Tener aberturas accesibles ante emergencia.
- Señalizada con sticker de “animales vivos” y flechas de dirección.
- De fondo firme y cubierto con material de alojamiento absorbente.



Caja de transporte de animales de laboratorio.

Buenas prácticas durante el transporte

- Para asegurar un buen traslado de los animales se deben considerar los siguientes puntos:
- Reducir lo más posible la frecuencia del transporte.
- Agrupar animales afines.
- No juntar machos de especies territoriales por peleas.
- Usar jaulas adecuadas a la especie animal que se transporta.
- Respetar el espacio mínimo y la densidad animal.
- Suministrar alimento y fuente de hidratación durante el transporte.
- Adjuntar documentación: Certificados e indicaciones.
- Manejo cuidadoso en todas las fases del transporte.
- Evitar la exposición a condiciones extremas.
- Respetar periodo de aclimatación.
- Considerar mecanismos de contención de jaulas para evitar volcamientos.

Transporte aéreo

Las condiciones para el transporte aéreo de los animales están estipuladas en las normativas de la Asociación Internacional de Transporte Aéreo (IATA). Estas son algunas de sus recomendaciones para las jaulas de transporte de ratones de laboratorio:

- Puede ser realizada en madera, fibra de vidrio, plástico rígido, cartón prensado o planchas de metal.
- Su interior debe estar recubierto por malla metálica fina para evitar que el animal roa la jaula.
- Debe tener alguna estructura de sostén al centro de la caja para evitar hundimiento o deformación.
- Debe tener una tapa o mirilla para revisar los animales durante el transporte sin la necesidad de abrir la jaula.
- Ventanas con filtros para animales SPF.
- Barras espaciadoras en las esquinas, para que las jaulas no queden juntas y disminuya la ventilación entre ellas.
- Proveer alimento y agua suficiente para 24 horas al menos.

Densidad de animales dentro de la jaula

Los factores que se consideran para determinar la densidad de animales para el transporte son distintas que los que se consideran para el alojamiento.

En el caso del transporte el espacio mínimo por animal es menor que en el alojamiento, ya que durante el transporte el animal tiende a ir quieto por el temor que le producen los ruidos, movimientos bruscos y cambios de temperatura, más bien tienden a agruparse durante el viaje y una vez que las condiciones se hacen un poco más estables comienzan a moverse dentro de la jaula.

Al agruparse amortiguan los movimientos bruscos entre ellos, por eso no es recomendable que viajen animales solos o en pequeñas cantidades dentro de jaulas muy espaciosas.

Recomendaciones de densidad

Especie	Peso gr	Espacio por animal (cm2)	Altura de jaula (cm)
Ratones	< 15	18	10
	19 a 21	26	10
	25 a 30	30 a 40	10
Ratas	< 100	75	15
	200 a 270	135 a 165	15
	300 a 400	190 a 250	15
Cobayos	< 350	193,6	15
	350 a 600	290,3	18

Reducción 10% t°>24° y 15% filtros

Provedores de transporte de animales

En Chile actualmente hay pocos proveedores de transporte de animales que cumplen con las condiciones que requiere el traslado de animales de laboratorio y hay confusión o desconocimiento de la normativa.

Existen deficiencias debido a que no se realizan las buenas prácticas durante el transporte.

Por otro lado, generalmente no se consideran las condiciones de bioseguridad adecuadas a los animales que se están trasladando.

Los traslados deben realizarse en vehículos climatizados, aunque el tramo sea corto y en jaulas adecuadas, con ventilación suficiente y material de alojamiento.

Hay solo una alternativa para el transporte aéreo y es con cabinas presurizadas.

Consideraciones para transporte dentro del mismo recinto

Si los animales van a ser trasladados de una sala a otra, se deberían transportar en las mismas jaulas donde están alojando, evitando la contaminación.

Las jaulas deben transportarse sin bebederos, de manera que no se produzcan derrames por el movimiento.

Si la ventilación de las jaulas es por la rejilla superior, éstas no se deben apilar.

Transporte de un recinto a otro en la misma institución (edificios distintos)

Deben cumplir las recomendaciones del caso anterior, evitando la exposición a luz solar directa y el contacto con personas y otros animales. Se pueden trasladar dentro de bolsas negras o dentro de contenedores que protejan de la exposición a la luz solar directa, procurando ventilar de vez en cuando para el ingreso de oxígeno.

Bioética y bienestar animal



La bioética se define como el estudio de las relaciones y acciones correctas y aceptadas que tiene el ser humano con los seres vivos. Existe una pregunta filosófica que tiene dos respuestas ¿Se pueden utilizar los animales para hacer experimentos? La primera respuesta es No y se fundamenta en la teoría del antiespecismo, que iguala al ser humano al resto de las especies e indica que moralmente el ser humano no debe discriminarlas, ni utilizarlas para sus propios fines.

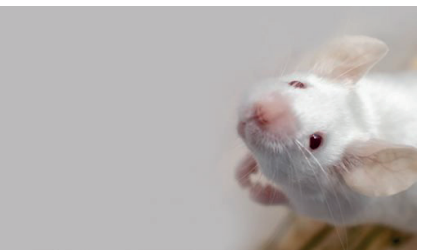
La segunda respuesta es Sí y está basada principalmente en la adquisición de nuevos conocimientos. Donde no es posible experimentar con el ser humano se utilizan animales. Estas dos posiciones son contrapuestas y no tienen convergencia.

En un principio no se sabía si los animales sentían dolor, por eso se realizaban procedimientos como la vivisección, donde no se utilizaba anestesia, ni analgésicos. Posteriormente y a medida que la ciencia ha ido avanzando, se ha reconocido que los animales son seres sintientes, según la presencia o no de un sistema neurológico que permita captar sensaciones de dolor. Cada vez más especies se van incluyendo en este grupo.

A lo largo de la historia el ser humano ha utilizado los animales con distintos fines, alimentación, entretenimiento, deporte, medio de transporte y también con fines experimentales. Gracias a esto se ha logrado avanzar en el conocimiento del cuerpo humano y animal en todas sus áreas, anatomía, fisiología, patología, etc. y se han descubierto medicamentos, procedimientos quirúrgicos, distintos tipos de terapias y vacunas que previenen enfermedades, tanto para el ser humano como para los animales, cuyo fin es mejorar la calidad de vida de las personas y también de los animales.

Los animales comenzaron a utilizarse antes de que el ser humano se hiciera la pregunta si se pueden utilizar o no y hasta la fecha se siguen utilizando. Si la respuesta a la pregunta ¿Se pueden utilizar los animales para hacer experimentos? es Si, entonces se deben considerar ciertos principios para el resguardo del bienestar de los animales y el ser humano se debe hacer responsable de las condiciones de su confinamiento y evitar su sufrimiento innecesario.

Principio de las 3 R: Reemplazar, Reducir, Refinar



Estos principios fueron formulados por Russell y Burch en el año 1959 y busca alternativas que eviten o sustituyan a los animales, usar el menor número posible de ellos y minimizar su sufrimiento y angustia.

Remplazar.

Todo uso de animales para una investigación o un experimento debe pasar por un análisis que indique si esa investigación puede prescindir del uso de animales, si existe una metodología que los reemplace, si es viable éticamente, si los resultados compensan el sufrimiento del animal o si ese experimento se ha realizado antes y no agrega valor repetirlo.

Existen en la actualidad muchas instituciones que investigan en la creación de métodos alternativos validados para el reemplazo de los animales y muchas pruebas que antes los utilizaban ya han sido reemplazadas por otras que no los usan. Las legislaciones de los países han ido incluyendo estos principios y prohibiendo las pruebas donde existen métodos alternativos validados, como por ejemplo el testeo de cosméticos en animales.

Reducir.

Se deben aplicar métodos estadísticos exactos y atinentes al tipo de experimento o investigación para calcular el número de animales a utilizar de manera que los resultados sean estadísticamente significativos. Que no se tenga que repetir el experimento por usar muy pocos animales o bien que se utilicen animales de manera excesiva. En algunos casos se pueden reutilizar animales del grupo control cuando no fueron intervenidos, de esa manera se reduce el número de animales a utilizar en otro experimento.

Refinar.

Se deben aplicar técnicas en las pruebas a las que los animales son sometidos con el fin de minimizar al máximo el estrés, la angustia y el dolor como, por ejemplo, uso de anestesia, analgésicos y antiinflamatorios. Cuando las pruebas ya han obtenido su resultado y el animal sigue un proceso de deterioro o sufrimiento se debe detener la prueba y sacar al animal del experimento, aplicando eutanasia si el daño es irreversible o bien recuperarlo si es necesario, esto se llama punto final humanitario.

Por último, se debe realizar mediciones de indicadores de dolor o sufrimiento durante el experimento, con el fin de tomar decisiones adecuadas frente al animal como, por ejemplo, implementar el uso de analgésicos y antiinflamatorios o detener las pruebas si hay dolor excesivo o injustificado. Existen varias tablas como la de Morton y Griffit que dan puntajes a distintas observaciones como, por ejemplo, baja de peso, aumento de la frecuencia cardíaca, aparición de tumores, falta de movimiento, posturas de dolor o bien a través de imágenes como la Escala de Grimace que indica dolor a través de los rasgos de la cara, ojos achinados, arriscamiento de las vibrisas y el hocico y posición de las orejas.



Escala de Grimace

Legislación y regulación en el uso de animales de experimentación

En Chile existe la ley 20.380 de Protección a los Animales, que en su título IV trata sobre los animales de experimentación.

En su Artículo 1º establece normas destinadas a conocer, proteger y respetar a los animales, como seres vivos y parte de la naturaleza, con el fin de darles un trato adecuado y evitarles sufrimientos innecesarios.

Da indicaciones generales sobre educación, tenencia responsable, transporte humanitario de los animales, instalaciones adecuadas de confinamiento de animales (circos, zoológicos, clínicas veterinarias, centros de investigación y docencia, etc.).

También aborda el beneficio y sacrificio humanitario de animales de producción.

Indica sanciones y multas, que en caso de maltrato animal pueden llegar desde 60 a 541 días a quienes cometan actos de maltrato o crueldad con animales.

TÍTULO IV. De los experimentos en animales vivos

Artículo 6º. - Define el significado de experimento en animales vivos e indica sus utilidades.

Artículo 7º. - Menciona que estos experimentos deben ser practicados por personal calificado, que evitará al máximo su padecimiento y que deberán realizarse en instalaciones adecuadas que eviten el maltrato y deterioro de su salud.

Artículo 8º. - Menciona la creación de un Comité de Bioética Animal y describe sus funciones generales. Su principal función es definir las directrices para el uso de animales de experimentación.

Artículo 9º. - Indica los integrantes de este Comité.

Artículo 10°. -Prohíbe realizar experimentos con animales vivos en los niveles básico y medio de la enseñanza.

El Comité de Bioética se constituyó en marzo del 2018.

De esta ley emanarán los reglamentos que regulen la experimentación animal a nivel nacional.

La regulación actual del uso de animales de experimentación recae en los Comités Institucionales de Cuidado y Uso de Animales. (CICUA).

Comité institucional de cuidado y uso de animales (CICUA)

Es un Comité creado en cada institución para regular y supervisar el uso de animales de experimentación dentro de la institución.

Debe estar conformado al menos por un médico veterinario experto en animales de experimentación, un investigador de la institución con experiencia en animales de experimentación, un investigador sin experiencia en animales de experimentación, un profesional de un área no relacionada con el uso de animales de experimentación y un miembro de la comunidad no relacionado con el uso de animales de experimentación.

Funciones del CICUA

Evaluar el cuidado, tratamiento, alojamiento y uso de los animales de experimentación de la institución.

Revisar al menos cada 6 meses los programas de los bioterios de experimentación para el cuidado y uso humanitario de los animales de experimentación.

Inspeccionar al menos cada 6 meses las instalaciones de bioterios de cría y experimentación.

Preparar reportes de evaluaciones y presentarlos a la autoridad de la institución.

Hacer recomendaciones a la Dirección respecto de las instalaciones de animales, programas de uso, planta física o entrenamiento del personal.

Revisar, aprobar y si amerita solicitar modificaciones o rechazar propuestas de investigaciones, pruebas o procedimientos de enseñanza que se relacionen con el cuidado de los animales.

Situación actual en legislación y regulación

El Comité de Bioética Animal se encuentra elaborando los reglamentos para el uso de animales de experimentación.

Ante la ausencia de reglamento específico se utilizan normativas internacionales.

Los CICUAS realizan la regulación del uso de los animales de experimentación en las instituciones.

DESAFIOS

Concretar y publicar los reglamentos de la Ley nº 20.380 respecto del uso de animales de experimentación.

Se deben certificar los CICUAS

Debería existir un registro de Bioterios, que asegure que se cumplan los requisitos mínimos para el bienestar de los animales.

Definir ente fiscalizador de los reglamentos en el uso de animales de experimentación.

Referencias

- ILAR (Institute for Laboratory Animal Research). A Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. National Academies Press. Enfoque general de bienestar, manejo y ética. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK54050/>
- FELASA (Federation of European Laboratory Animal Science Associations). Guidelines for the care and use of animals in research. Enfoque internacional sobre cuidado, en refinamiento, reducción y reemplazo. <https://felasa.eu/working-groups/guidelines>
- AVMA Panel on Euthanasia. AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals (2020 o edición más reciente). Métodos aceptables y consideraciones para roedores. <https://icwdm.org/wp-content/uploads/2021/03/2020avma-euthanasia-guidelines.pdf>
- National Research Council. Nutritional requirements of laboratory animals (por ejemplo, NRC Food and Nutrition Guidelines). Enfoque de nutrición y dieta de roedores. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK231927/>
- National Research Council. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (recurrente referencia en EE.UU.). Relación entre ambiente, manejo y resultados. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK54050/>
- Broom, Donald M. (2011). Bienestar animal: conceptos, métodos de estudio e indicadores. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 24(3), 306-321. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_art-text&pid=S0120-06902011000300010&lng=en&tlng=es.
- Flecknell P. Replacement, reduction and refinement. ALTEX. 2002;19(2):73-8. PMID: 12098013. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12098013/>
- Hubrecht & Kirkwood. The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals. Guía práctica internacional. <https://www.ufaw.org.uk/animal-welfare-publications/the-ufaw-handbook-on-the-care-and-management-of-laboratory-and-other-research-animals>
- Hobbiesiefken U, Mieske P, Lewejohann L, Diederich K. Evaluation of different types of enrichment - their usage and effect on home cage behavior in female mice. PLoS One. 2021 Dec 23;16(12). <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8699725/>
- Kathryn Bayne and Patricia V. Turner. Laboratory Animal Welfare. 2013. Academic Press. <https://www.sciencedirect.com/book/9780123851031/laboratory-animal-welfare>
- World Organisation for Animal Health (OIE). Terrestrial Animal Health Codes and laboratory animal health practices. https://rr-europe.woah.org/app/uploads/2020/08/oie-terrestrial-code-1_2019_en.pdf
- ILAR, 2011. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, complementos sobre microambiente y monitorización ambiental. <https://nap.nationalacademies.org/catalog/12910/guide-for-the-care-and-use-of-laboratory-animals-eighth>
- Chloe J. Love, Carolina Gubert, Thibault Renoir, Anthony J. Hannan, Environmental enrichment and exercise housing protocols for mice, STAR Protocols, Volume 3, (4), 2022. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S266616672200569X>
- European Commission. Guidance documents on the implementation of the 3Rs in animal research. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-principles-regulatory-acceptance-3rs-replacement-reduction-refinement-testing-approaches_en.pdf
- The ARRIVE Guidelines (2010; revisiones). Guía para la redacción de informes de investigaciones con animales y reducción de sesgo. <https://arriveguidelines.org/sites/arrive/files/documents/ARRIVE%20guidelines%202010%20-%20Spanish.pdf>