

GUIA PARA CUIDADO Y USO DE ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN



Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación
INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGIA AGROPECUARIA
Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias
DIRECCION POSTAL - C.C. 77 - 1708 MORON - BUENOS AIRES
REPUBLICA ARGENTINA

(Versión 1)

INDICE

Introducción.....	6
Definiciones.....	7
Animal de laboratorio	7
Bienestar animal	7
Trato Humanitario en Animales de laboratorio	7
Stress.....	8
Eutanasia Humanitaria.....	8
1. POLÍTICAS Y RESPONSABILIDADES INSTITUCIONALES	8
Atención veterinaria	8
Entrenamiento y capacitación del personal	8
Salud Ocupacional y Seguridad del personal	9
Identificación de Peligros y Evaluación de Riesgos.....	9
Higiene Personal.....	10
Instalaciones, Procedimientos y Supervisión	10
Riesgos de Experimentación con Animales	10
Protección Personal	11
Evaluación Médica y Medicina Preventiva para el Personal	12
2. ANIMALES DE EXPERIMENTACION	12
2.1- TRANSPORTE Y DESCARGA DE LOS ANIMALES	12
2.2.- MANTENIMIENTO	13
Microambiente y Macroambiente.....	14
Encierro Primario	14
Refugios o Alojamiento al Aire Libre.....	15
Ambientes Naturales.....	16
Recomendaciones de Espacio.....	16
Temperatura y Humedad	22
Ventilación	23
Iluminación.....	23
Ruido	25
2.3. MANEJO CONDUCTA.....	25
Estructura del Medio Ambiente.....	25
Ambiente Social	26
Actividad	26
2.4. MANEJO DIARIO	27
Alimentación	27
Agua	27
Lecho	28
Sanidad	28
Medicina preventiva	31
Cuarentena y separación.....	31
Período de adaptación.....	32
Vigilancia, diagnóstico, y control de enfermedades.....	33
Cirugía	33
Dolor, analgesia y anestesia.....	36

Eliminación de los Desechos	37
2.6. EMERGENCIAS, FINES DE SEMANA Y DIAS FESTIVOS	38
2.7. MANEJO DE LAS POBLACIONES	38
Identificación y Registro	38
3. PROCEDIMIENTOS	39
3.1.MUESTREO.....	39
Ambiente del muestreo	39
3.1.1. EXTRACCION DE SANGRE	39
Preparación del lugar	40
Sujeción del animal	40
Lugar de extracción	40
Volumen	40
Instrumental	41
Retirada de la aguja	41
Efectos adversos	41
Métodos de punción venosa no recomendados	41
ANEXO Sangrado retro-orbital.....	42
Sangrado en roedores.....	42
3.1.2. CANULACIÓN	42
Canulación de corta duración (menos de un día)	43
Canulación de larga duración (2 días o mas).....	43
Equipamiento y material.....	43
Fijación de la cánula	43
Toma de muestra	44
Efectos adversos	44
3.1.3. SANGRADO ARTERIAL	44
Punción con aguja (especialmente en conejos)	44
Canulación.....	44
3.1.4. PUNCIÓN CARDÍACA.....	45
Materiales	45
Toma de muestra	45
Cuidados posteriores del animal y efectos adversos potenciales	46
3.1.5. VOLUMEN DE SANGRE A EXTRAER	47
3.1.6. SIGNOS DE SHOCK HIPOVOLÉMICO Y DE ANEMIA	49
3.1.7. MUESTRAS DE MATERIA FECAL.....	49
3.1.8. HISOPADOS.....	49
3.2. ADMINISTRACIÓN DE SUSTANCIAS	50
Vía oral (PO)	50
Vía Subcutánea (SC)	50
Vía Intraperitoneal (IP).....	50
Vía Intramuscular (IM).....	51
Vía Endovenosa (EV).....	51
Vía Intradérmica (ID).....	51
3.3. EUTANASIA	51
3.3.1. INTRODUCCION.....	51
Consideraciones de comportamiento animal.....	52
Aspecto humano	53

Clasificación de métodos de eutanasia	53
Métodos de eutanasia.....	53
Mecanismo de acción de los agentes eutanásicos	54
Instrumentos.....	54
Signos de dolor y angustia.....	55
Reconocimiento y confirmación de la muerte.....	55
Manejo e inmovilización	55
Eliminación de cadáveres y residuos.....	55
Comentarios generales sobre métodos de eutanasia.....	56
3.3.2. METODOS ACEPTABLES DE EUTANASIA	56
1. Métodos físicos.....	56
1.1. Disparo	56
1.2. Concusión (aturdimiento por golpe o stunning).....	57
1.3. Aturdimiento eléctrico.....	58
1.4 Dislocación cervical	58
1.5. Maceración	59
1.6. Irradiación con microondas	59
2. Métodos químicos	60
2.1 Agentes inhalatorios	60
Dióxido de carbono	60
Monóxido de carbono.....	62
2.2. Anestésicos inhalatorios volátiles.....	62
Halotano	62
Enflurano	62
Isoflurano.....	63
2.3. Agentes para animales acuáticos, para su absorción a través de la piel y las agallas	63
Benzocaina (etil aminobenzoato)	63
Tricaína metano sulfonato (MS-222 tamponado).....	63
Etomidato y metomidato	63
Quinaldina (2-metilquinolina).....	63
2.4 Agentes inyectables	64
2.4.1. Barbitúricos	64
Pentobarbital sódico	64
T-61	65
3. Métodos aceptables con animales inconscientes	65
3.1. Inserción de aguja.....	65
3.2. Congelación rápida.....	65
3.3. Exanguinación	66
3.4. Nitrógeno/argón.....	66
3.5. Etanol.....	66
3.6. Hidrato de cloral	66
3.7. Cloruro potásico	66
3.8. Embolia gaseosa	67
4. Métodos que no son aceptables para eutanasia	67
4.1. Descompresión/vacío.....	67
4.2. Hipotermia.....	67
4.3. Hipertermia.....	67

4.4. Ahogamiento/extracción del agua	67
4.5. Rotura de cuello.....	67
4.6. Estrangulamiento	68
4.7. Protóxido de nitrógeno	68
4.8. Ciclopropano	68
4.9. Éter (éter dietílico).....	68
4.10. Cloroformo	68
4.11. Metoxiflurano	68
4.12. Tricloroetileno	68
4.13. Gas Cianhídrico	69
4.14. 2-fenoxietanol.....	69
4.15. Uretano	69
4.16. Agentes bloqueantes	69
4.17. Ketamina.....	69
4.18. Sedantes.....	69
4.19. Sulfato magnésico	69
4.20. Otros anestésicos inyectables	70
4.21. Otros agentes	70
4.22. Agentes administrados por vía oral	70
4.23. Analgésicos narcóticos	70
ANEXO Eutanasia en especies silvestres.....	70
4. RESTRICCIONES DE NECESIDADES BÁSICAS DURANTE LA EXPERIMENTACIÓN	71
Restricción Física	71
Restricción de Líquido o Alimento	71
Múltiples Intervenciones Quirúrgicas Mayores	72
ANEXO RUMIANTES.....	73
(Bovinos, Ovinos y Caprinos)	73
ANEXO EQUIDOS.....	81
(Caballos, Mulas y Burros).....	81
ANEXO AVES.....	85
(Gallinas, Pavos y Patos).....	85
ANEXO ROEDORES	¡Error! Marcador no definido.
(Ratas, Ratones, Cobayos).....	¡Error! Marcador no definido.

Introducción

"El creciente uso de cultivos celulares, de sistemas microbianos, de simulación computarizada y otras técnicas del reemplazo, indican claramente que la comunidad científica se ha comprometido a aplicar el principio de las **"Tres R"** de Russell-Burch (reducción, reemplazo y refinamiento) en cuanto al uso de animales de experimentación. Sin embargo, estos procesos son complementarios y dependen ante todo sobre la investigación efectuada a partir de los animales. En efecto, dichos procesos son aplicables a medida que se hayan realizados estudios sobre los animales y estudios clínicos. Pero si el investigador desea confirmar la precisión de sus investigaciones, con frecuencia esta obligado a recurrir al animal entero."(Manual sobre el Cuidado y Uso de los Animales de Experimentación del Consejo Canadiense de Protección de los Animales (CCPA). Capítulo I).

El **Reemplazo** de los animales por otros métodos (cultivos: órganos, tejidos, células.- Microorganismos.- Sistemas físico-químicos: mimetizantes de función biológica "in vivo"), debería ser una inquietud en todos los investigadores, el refinamiento de los experimentos y la reducción en el número de animales utilizados son aspectos fundamentales de los cuales se ocupa esta nueva rama de las ciencias biológicas.

El **Refinamiento** involucra, fundamentalmente, la normalización según parámetros internacionales, la definición genética y del estado microbiológico de los animales utilizados (animales definidos) y la calidad del ambiente donde son criados, antes y durante la experimentación (perfeccionamiento de métodos para detectar dolor, uso de anestésico, analgésicos y tranquilizantes, uso de técnicas no invasivas o telemétricas, uso de radiografía (tomografía) para detectar tumores o deterioro orgánico, aplicar eutanasia anticipada). Los progresos en el refinamiento de los experimentos llevarán, por sí solos, a la **Reducción** en el número de animales utilizados (DL₅₀/ test límite (5 g / kg – 500 mg – 5 mg), coordinación para uso conjunto, calidad sanitaria, genética y ambiental (menor dispersión de los datos – menor numero de animales), banco de datos: publicación de resultados negativos para no repetir.- Acceso a la literatura especializada.- Metodología bioestadística avanzada).

El seguimiento de estos aspectos en la literatura científica ha puesto en evidencia un uso ineficiente de animales debido al pobre diseño experimental, al inapropiado análisis estadístico de los resultados, o a ambas causas. Cabe destacar que **el número de animales utilizados debe ser el mínimo necesario** para poder evaluar la hipótesis y dar resultados estadísticamente útiles. Por lo tanto, podemos resumir que la Ciencia de Animales de Laboratorio se ocupa, simultáneamente, de mejorar la investigación biomédica y de asegurar el bienestar animal.

Definiciones

Para el correcto uso de esta guía, a continuación se definirán algunos términos que permitirán tomar contacto con la importancia del Cuidado y Uso de Animales de Experimentación.

Animal de laboratorio

Cualquier especie animal (mamíferos, aves, reptiles, anfibios y peces), que se mantiene bajo condiciones determinadas y se utiliza con fines científicos.

Bienestar animal

El bienestar animal (BA) es todo lo relativo al confort animal y que está mas allá de la mera falta de enfermedad, abarcando el complejo estado de bienestar físico. Es la realidad que considera al animal en un estado de armonía en su ambiente y la forma por la cual reacciona frente a los problemas del medio, tomando en cuenta su confort, su alojamiento, trato, cuidado, nutrición, prevención de enfermedades, cuidado responsable, manejo y eutanasia humanitaria cuando corresponda (Leopoldo Estol, Universidad del Salvador).

La asociación Mundial de Veterinarios (AMV) acepta y afirma la primacía de la profesión en el diagnóstico, tratamiento y control de las enfermedades animales, pero también reconoce la responsabilidad sobre todo lo necesario para disminuir el sufrimiento, dolor y angustia, promoviendo el BA.

El Comité Permanente de la AMV, desde mayo de 1990, adoptó una política sobre BA con alcance mundial, la que es difundida y promovida a través de los miembros representantes por los continentes y subcontinentes (Africa, América Latina, Asia, Australasia y Europa) ante el Comité respectivo sobre “BA y Etología”. A través de las actividades de este Comité, se trata de estimular la implementación en todos los países de las políticas sobre BA aprobadas por dicha AMV.

Las mismas, expresamente, manifiestan que se deben respetar las *NECESIDADES* de los animales, que son esenciales para este BA:

- Que no sufran hambre ni sed
- Que no sufran malestar físico ni dolor
- Que no sufran heridas ni enfermedades
- Que no sufran miedo ni angustia
- Que puedan ajustarse a su comportamiento normal y esencial

Trato Humanitario en Animales de laboratorio

Son todas las maniobras, métodos y actitudes del personal e investigadores a cargo del cuidado de los animales de laboratorio que cumplen con las disposiciones legales nacionales e internacionales de los derechos del animal. Cualquier violación a la **Ley Nacional 14.346**, del Código Penal Argentino, **Ley Nacional 22421/81** de Conservación de Fauna Silvestres, **Derechos Internacionales de los Animales (aprobados por la ONU y la UNESCO)** y la **OMS** (Principios para el Uso de Animales de Experimentación basados

en las Guías Internacionales para la Investigación Médica, THE COUNCIL POR INTERNACIONA ORGANIZATION OF ANIMAL SCIENCES - OMS 1985, será considerado **trato NO HUMANITARIO** y conducirán a las penalizaciones correspondientes.

Stress

El stress se define como cualquier factor (stressors) psíquico, fisiológico o emocional que induce alteraciones en la homeostasis o en la capacidad adaptativa de los animales (Kitchen,N. et al, 1987). La respuesta de un animal al stress representa un proceso adaptativo que se hace necesario para reestablecer el estado mental y fisiológico. Esta respuesta involucra cambios en los sistemas neuroendócrinos, sistema nervioso autónomo y estado mental que resultan en cambios comportamentales.

La respuesta de un animal varía de acuerdo a la experiencia, edad, especie, raza y estado actual fisiológico (Nacional Research Council, 1992).

El stress y la respuesta resultante se clasifican en tres fases (Breazile, JE, 1987): Eustress: cuando un estímulo inofensivo inicia una respuesta adaptativa que beneficia al animal; Stress Neutral: cuando la respuesta de los animales frente a un estímulo no causa efecto benéfico ni dañino; Distress: cuando la respuesta de los animales a un estímulo interfiere con el bienestar y el confort de los mismos (McMillan FD, 1987).

Eutanasia Humanitaria

Se aceptará como eutanasia humanitaria todo aquel método que produzca una rápida inconciencia y la subsiguiente muerte, sin evidencias físicas y fisiológicas de dolor o distress, o bien cualquier método que utilice un agente anestésico que produzca pérdida de conciencia sin evidencias físicas y fisiológicas de dolor o distress y la subsiguiente muerte.

1. POLÍTICAS Y RESPONSABILIDADES INSTITUCIONALES

Atención veterinaria

Debe brindarse atención veterinaria adecuada, incluyendo a todos los animales para la evaluación de su salud y bienestar. La misión institucional, las metas programáticas y la envergadura del programa animal determinarán la necesidad de tiempo completo, tiempo parcial o servicios de asesoría veterinaria. Las visitas del asesor o del veterinario de tiempo parcial deberán hacerse a intervalos apropiados según las necesidades del programa.

Consideraciones éticas, humanitarias y científicas en ocasiones requieren el uso de tranquilizantes, analgésicos o anestésicos en los animales. El veterinario responsable (i.e., un veterinario que tenga autoridad directa o delegada) debe asesorar al personal de investigación para asegurar que se cumplan las necesidades humanitarias y que a la vez sean compatibles con los requerimientos científicos.

Entrenamiento y capacitación del personal

La institución debe ofrecer capacitación formal o entrenamiento durante el desempeño del trabajo, para facilitar la implementación eficaz del programa y el cuidado y uso

humanitarios de los animales. Se deben brindar al personal expuesto a riesgo procedimientos claros y definidos para conducir sus responsabilidades, deben entender los peligros involucrados y deben ser diestros en implementar los dispositivos de seguridad requeridos.

La necesidad de personal experto en otras disciplinas, tales como: crianza animal, administración, medicina y patología de los animales de laboratorio, salud y seguridad ocupacional, manejo de conducta, manejo genético y otros aspectos varios de apoyo a la investigación científica, será acorde con los alcances del programa.

Los investigadores, personal técnico, aprendices e investigadores visitantes que realicen anestesia, cirugía u otras manipulaciones experimentales en animales deben estar capacitados a través de entrenamiento o experiencia para efectuar estas labores de una manera humanitaria y científicamente apropiada.

El personal debe ser entrenado acerca de las zoonosis, seguridad química, peligros microbiológicos y físicos (incluyendo aquellos relacionados con la radiación y las alergias), condiciones extraordinarias o agentes que podrían ser parte de los procedimientos experimentales (incluyendo el uso de animales con ingeniería genética y el uso de tejidos humanos en animales inmunosuprimidos), manejo de los materiales de desecho, higiene personal y otras consideraciones (ej. se deben tomar las precauciones durante el embarazo, enfermedad o inmunodeficiencia del personal), que sean apropiadas para los peligros impuestos en el centro de trabajo.

Salud Ocupacional y Seguridad del personal

El programa de salud y seguridad ocupacional deber ser parte del programa general de cuidado y uso de los animales (CDC y NIH 1993; CFR 1984 a, b, c; PHS Policy). El programa debe conducirse de acuerdo a regulaciones federales, estatales y locales y debe enfocarse al mantenimiento de un lugar de trabajo seguro y saludable. El programa dependerá de las instalaciones, actividades investigativas, riesgos para la salud y las especies animales involucradas. La responsabilidad de la operación cotidiana y la seguridad en el lugar de trabajo reside en el supervisor del laboratorio o instalaciones (ej., el investigador principal, el director del bioterio o el veterinario) y depende del desempeño de las prácticas de seguridad laboral por todos los empleados.

Identificación de Peligros y Evaluación de Riesgos

El personal profesional que lleve a cabo y apoye programas de investigación que involucren agentes físicos, químicos o biológicos peligrosos (incluyendo radiaciones ionizantes y no-ionizantes) deben estar capacitados para valorar los peligros asociados a los programas y para seleccionar los dispositivos de seguridad apropiados para los riesgos. Un programa eficaz de salud y seguridad ocupacional asegura que los riesgos asociados con el uso experimental de los animales se reduzcan a niveles apropiados. También deben identificarse y evaluarse los peligros potenciales tales como mordidas, agentes químicos de limpieza, alérgenos y zoonosis, que son inherentes o intrínsecos al uso de los animales. En la evaluación de riesgos asociados con las actividades peligrosas y en el desarrollo de los procedimientos para manejar tales riesgos se deben involucrar especialistas en salud y seguridad con conocimiento de las disciplinas apropiadas.

El grado y nivel de participación del personal en el programa de salud y seguridad ocupacional debe estar basado en los peligros planteados por los animales y los materiales usados; en la intensidad de la exposición, su duración y frecuencia; en la susceptibilidad del personal; y en la historia de lesiones y enfermedades ocupacionales del centro de trabajo en particular (Clark 1993).

Higiene Personal

Es esencial que todo el personal mantenga altos estándares de limpieza personal. La institución debe suministrar lavandería y ropa apropiada para vestirse en el bioterio y los laboratorios en donde se utilizan animales. En muchas situaciones es aceptable un servicio comercial de lavandería; sin embargo, se deben hacer los arreglos necesarios para descontaminar la ropa expuesta a peligros potenciales. En algunas circunstancias podrían ser desechables los guantes, cubrebocas, gorras, batas, overoles y cubrezapatos. El personal debe lavarse las manos y cambiarse de ropa tan frecuente como sea necesario para mantener la higiene personal. La ropa de trabajo usada en los cuartos de los animales no deberá usarse fuera de las instalaciones. No se debe permitir al personal que coma, beba, fume o se aplique cosméticos en los cuartos de los animales.

Instalaciones, Procedimientos y Supervisión

Son variables las instalaciones requeridas para apoyar lo relacionado con la salud y seguridad ocupacional asociadas a los programas de cuidado y uso de los animales. Debido a que es esencial un alto estándar de limpieza personal se deben proveer las instalaciones e insumos para cumplir con esta obligación. Deben estar disponibles baños con lavabos y duchas, acordes con el programa. Las instalaciones, el equipo y los procedimientos deben estar diseñados, seleccionados y desarrollados para ofrecer operaciones ergonómicamente saludables, que reduzcan el potencial de lesiones físicas al personal (tales como las que puedan causarse por levantar equipo o animales pesados y por la realización de movimientos repetitivos). El equipo de seguridad se debe mantener correctamente y calibrarse rutinariamente. La selección de los sistemas de alojamiento animal apropiados requieren de conocimientos y criterio profesional y dependen de la naturaleza del peligro en cuestión, los tipos de animales utilizados y del diseño de los experimentos. Los animales en experimentación deben alojarse de tal manera que el alimento, el lecho, las heces y la orina contaminados puedan manipularse de una forma controlada. Deberán proveerse de instalaciones, equipo y procedimientos adecuados para la eliminación de desechos. Cuando exista la posibilidad de exceder (CFR 1984 b) los límites de exposición permitidos (PELs) se deberán usar los métodos idóneos para valorar la exposición al peligro potencial de agentes físicos, químicos y biológicos.

Riesgos de Experimentación con Animales

Al seleccionar los dispositivos de seguridad específicos para la experimentación con agentes peligrosos en animales se debe prestar especial atención a los procedimientos de cuidado y alojamiento de animales, almacenamiento, distribución de los agentes, preparación y administración de dosis, manejo de fluidos y tejidos corporales, disposición de los desperdicios y cadáveres y protección del personal. El equipo especial de seguridad se debe usar en combinación con las prácticas de seguridad y manejo apropiados. Como

regla general, la seguridad depende del personal entrenado que observa rigurosamente las prácticas de seguridad.

Son necesarias instalaciones y equipo especiales de seguridad para proteger al personal encargado del cuidado animal y de la investigación, a otros ocupantes del edificio, al público, los animales y el medio ambiente, de la exposición a agentes peligrosos físicos, químicos y biológicos usados en experimentación animal. Las instalaciones empleadas en experimentación animal con agentes peligrosos deben estar separadas de otras áreas de alojamiento animal, áreas de apoyo, de los laboratorios de investigación y clínicos, así como de las áreas para la atención de los pacientes y deben estar identificadas apropiadamente; el acceso a ellas estará limitado al personal autorizado. Tales instalaciones deberán estar diseñadas y construidas para facilitar la limpieza y el mantenimiento de sistemas mecánicos. Un diseño de doble corredor correctamente administrado y usado o un sistema de barrera con entrada controlada son medios efectivos para reducir la contaminación cruzada. Los drenajes del piso siempre deben contener líquidos o sellarse eficazmente por otros medios. Se pueden colocar trampas de llenado automático para asegurar que siempre permanezcan llenas de líquido.

Los agentes peligrosos deben ser confinados al medio ambiente en donde se realice el estudio. El control de flujo de aire (tal como el uso de gabinete de seguridad biológica) que reduce al mínimo el escape de contaminantes es una barrera primaria utilizada para la manipulación y administración de agentes peligrosos y para llevar a cabo necropsias de animales contaminados (CDC 1995; Kruse y otros 1991). Las barreras secundarias tales como los vestíbulos ventilados, la presión de aire negativa, los filtros de aire y el equipo mecánico de respaldo con encendido automático, están dirigidos a evitar la liberación accidental de los peligros fuera del medio ambiente de trabajo y de la instalación.

Se debe limitar la exposición a los gases sobrantes de la anestesia, esto generalmente se logra utilizando varias técnicas de purificación-expulsión. Si se usa éter se debe asegurarse al personal mediante el uso apropiado de letreros, equipos y procedimientos que reduzcan al mínimo los riesgos asociados con su explosividad.

Protección Personal

Se debe proveer el equipo de protección personal y cuando sea necesario se deben adoptar otras medidas de seguridad. El personal que cuida a los animales debe vestir ropa adecuada brindada por la institución, tal como: zapatos o cubrezapatos y guantes. Se debe suministrar ropa protectora limpia cuantas veces sea necesario. Cuando esté indicado el personal debe ducharse cuando abandone las áreas de cuidado animal, de procedimientos o de preparación y dosificación. Las ropas y el equipo protector no se deben usar fuera de los límites del área de trabajo de agentes peligrosos. Al personal con exposición potencial a los agentes peligrosos se le debe proporcionar el equipo de protección personal apropiado, de acuerdo a los agentes en cuestión (CFR 1984 c). Por ejemplo, al personal expuesto a primates no-humanos se le debe suministrar artículos protectores, tales como: guantes, protectores para brazos, cubrebocas y caretas. En áreas de ruido intenso debe proporcionarse protección auditiva. Al personal que trabaja en áreas en donde puede estar expuesto a aerosoles o vapores contaminantes se le debe suministrar protección respiratoria adecuada (CFR 1984 c).

Evaluación Médica y Medicina Preventiva para el Personal

El desarrollo e implementación de un programa de evaluación médica preventiva debe involucrar la participación de profesionales capacitados, tales como médicos y enfermeras especialistas en salud ocupacional. Se deben considerar otros factores médicos y legales tales como la confidencialidad, en el contexto de las regulaciones federales, estatales y locales aplicables.

Es aconsejable hacer una evaluación de la historia clínica antes de asignar el trabajo, para valorar los riesgos potenciales para cada uno de los empleados. Son recomendables evaluaciones médicas periódicas para la gente que trabaja en ciertas categorías de riesgo. Se debe adoptar un calendario apropiado de inmunizaciones. Es importante inmunizar contra el tétanos al personal que cuida a los animales. Además, se debe ofrecer inmunización a la gente expuesta o con riesgo de infección, antes de la exposición, a agentes tales como la rabia o el virus de la hepatitis B. Si se realiza investigación con agentes infecciosos y está disponible una vacuna eficaz, se recomienda la inmunización.

La vigilancia de las zoonosis debe ser parte del programa de salud ocupacional (CDC y NIH 1993; Fox y otros 1984). El personal debe ser instruido para notificar a los supervisores de exposiciones conocidas o potenciales ante la sospecha de peligros para la salud y enfermedades. Se deben establecer procedimientos claros para el reporte de todos los accidentes, mordidas, rasguños y reacciones alérgicas (NRC por imprimirse).

Las enfermedades de los primates no-humanos transmisibles al hombre pueden ser un serio peligro. Los técnicos en cuidado animal, clínicos, investigadores, estudiantes de pre y posgrado, los técnicos en investigación, asesores, trabajadores de mantenimiento, personal de seguridad y otras personas que tengan contacto con primates no-humanos o que tengan responsabilidades en las áreas de alojamiento de esos animales deben ser examinados rutinariamente para tuberculosis. El personal que trabaja con macacos debe tener acceso a y ser instruido en el uso de estaciones de emergencia para la atención de mordidas y rasguños, debido a la exposición potencial al Cercopithecine herpesvirus I (antes Herpesvirus simiae). Se debe establecer un procedimiento que asegure la atención médica de las mordeduras y rasguños.

2. ANIMALES DE EXPERIMENTACION

2.1- TRANSPORTE Y DESCARGA DE LOS ANIMALES

Acondicionamiento de los vehículos y traslado hacia los Centros de Investigación

Para el transporte de los animales que ingresarán a las experiencias, los vehículos deberán estar acordes a la especie, tamaño, edad y estado fisiológico de los animales que se transportan. El piso del vehículo deberá contar con una superficie anti-deslizante (enrejado o bien una cama de pasto seco) y deberá tener los laterales y el techo cerrados, para evitar escapes por saltos, en las especies que pudieran hacerlo.

El número máximo de animales permitido por metro cuadrado dependerá de la especie y del tamaño, pero deberá tenerse en cuenta que los mismos no podrán deambular por el vehículo ni estar amontonados, impidiendo que cambien la posición de su cuerpo, para estar más cómodos. En caso de que el número de animales sea menor a la cantidad de individuos permitidos para ser transportados en ese vehículo, se podrán utilizar sogas cruzadas de lateral a lateral, para disminuir la superficie y de esta manera limitar el

movimiento de los animales. Ante la presencia de animales intranquilos, los mismos se podrán inmovilizar colocándoles bozales y atándolos a las paredes del vehículo y en los casos extremos, se podrá recurrir a la anestesia, por un veterinario habilitado, siempre que se consulte previamente al investigador responsable.

El traslado deberá realizarse con personal entrenado en el manejo de los animales, para agilizar las maniobras de carga y descarga y poder solucionar cualquier inconveniente que pudiera surgir durante el traslado.

Al momento de la carga de los animales en el establecimiento proveedor, se deberá contar con la reglamentación legal sanitaria (DTA-SENASA) que permite el tránsito de los animales dentro del Territorio de la República Argentina. En caso de que se trasladen especies de fauna silvestre, se deberá obtener el permiso de Fauna Provincial (de origen de los animales) y de Fauna Nación que correspondan para la especie.

El transportista también deberá contar con una copia del Proyecto, ya aprobado por este **Comité**, donde deberán figurar los datos del Investigado responsable, por cualquier inconveniente que se presente durante el viaje.

En caso de que la duración del viaje lo requiera, se deberán realizar paradas para brindarles agua o tratamientos veterinarios específicos a los animales en tránsito, siempre que el proyecto de investigación lo permita.

La hora de llegada de los animales al Centro de Investigación debe ser notificada a las autoridades del mismo, para que prevean la disposición de personal auxiliar para la descarga y alojamiento de los animales en sus respectivos boxes de asilamiento.

El comité no aceptará para cargar, levantar o descargar a un animal, el uso de picana eléctrica.

2.2.- MANTENIMIENTO

Medio Ambiente, Alojamiento y Manejo de los animales (Extraído de Edición Mexicana de la Guía para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio. Institute of Laboratory Animal Resources. Commission on Life Sciences National Research Council auspiciada por la Academia Nacional De Medicina. 1999. Copyright National Academy Press, Washington, D.C. 1996.)

Son esenciales el manejo y alojamiento apropiados de las casas para animales de laboratorio, también llamadas bioterios, para su bienestar, la calidad de los resultados de la investigación científica y los programas de pruebas de control y de enseñanza, en las cuales se utilicen dichos animales y para la salud y seguridad del personal. Un buen programa de manejo ofrece el ambiente, alojamiento y cuidado que permite a los animales crecer, madurar, reproducirse y mantener una buena salud.

Al planear un adecuado ambiente físico y social, hospedaje, espacio y manejo se deben considerar muchos factores entre ellos:

- Las especies, variedad y raza de animales y sus características individuales tales como sexo, edad, tamaño, conducta, experiencia y salud.
- La habilidad de los animales para integrar grupos con sus semejantes, a través de la vista, olfato y posible contacto, ya sea que los animales se mantengan aislados o en grupos.
- El diseño y construcción del alojamiento.

- La disponibilidad y adecuación de elementos que enriquezcan el medio ambiente.
- Las metas del proyecto y el diseño experimental (ej., producción, crianza, investigación, pruebas de laboratorio y educación).
- La intensidad de la manipulación animal y el grado de daño que causen los procedimientos.
- La presencia de materiales peligrosos o que causen enfermedad.
- La duración del período de permanencia de los animales.

Los animales deben alojarse con el objeto de permitir el despliegue completo de conductas específicas y normales de cada especie y disminuir al mínimo conductas inducidas por estrés. En el caso de las especies gregarias, esto normalmente requiere el alojamiento en parejas a grupos compatibles.

MEDIO AMBIENTE

Microambiente y Macroambiente

El microambiente de un animal es el ambiente físico que lo rodea de manera inmediata, lo compone la temperatura, humedad y la composición gaseosa y particulada del aire, su límite es el medio de encierro primario (es decir la jaula del animal). El medio ambiente físico del encierro secundario, es decir el cuarto, establo o corral al aire libre, constituye el macroambiente. Aún cuando el micro y el macroambiente están vinculados por la ventilación entre los encierros primario y secundario, pueden ser totalmente diferentes entre ellos, siendo afectados por el diseño de ambos.

En los encierros primarios pequeños puede ser difícil medir las características microambientales. La información disponible indica que la temperatura, humedad y concentración de gases y partículas a menudo son más altas en el microambiente del animal que en el macroambiente (Besch 1980; Flynn 1959; Gamble y Clough 1976; Murakami 1971; Serrano 1971). Las condiciones microambientales pueden inducir cambios en los procesos metabólicos y fisiológicos o alteraciones en la susceptibilidad a enfermedades (Broderson y otros 1976; Schoeb y otros 1982; Vesell y otros 1976).

ALOJAMIENTO

Encierro Primario

El encierro primario (generalmente una jaula, corral o casilla de caballeriza o establo) constituye los límites del ambiente inmediato del animal. Los encierros primarios aceptables permiten:

- Satisfacer las necesidades fisiológicas y de conducta de los animales incluyendo la micción y la defecación, el mantenimiento de la temperatura corporal, los movimientos normales y postura, y cuando esté indicado la reproducción.
- Las interacciones sociales entre individuos de la misma especie y el establecimiento de jerarquía dentro del encierro o entre encierros.
- Que los animales permanezcan limpios y secos (de acuerdo con los requerimientos de las especies).
- Una ventilación adecuada.

- El acceso de los animales al agua y alimento, y también brindar facilidades para el lleno, relleno, cambio, servicio y limpieza de los utensilios con los cuales se proporcione el agua y el alimento.
- Tener un medio ambiente seguro, que impida el escape de los animales o el entrapamiento de sus apéndices entre superficies opuestas o en aberturas estructurales.
- La ausencia de bordes cortantes o proyecciones que puedan causar lesiones a los animales.
- Permitir la observación de los animales con la mínima molestia para ellos.

Los encierros primarios deben construirse con materiales que equilibren las necesidades del animal con la facilidad para llevar a cabo la sanidad. Deben tener superficies lisas, impermeables, con el mínimo de rebordes o sobresalientes, ángulos, esquinas y superficies que se traslapen, de tal manera que la acumulación de suciedad, desechos y humedad se reduzcan y sea posible una limpieza y desinfección satisfactoria. Deben estar contruidos con materiales durables que resistan la corrosión y que soporten la manipulación ruda sin desportillarse, cuartearse u oxidarse. En algunas situaciones, materiales menos durables, como la madera, pueden ofrecer un ambiente mas apropiado (tales como perreras o corrales) y pueden usarse para construir perchas, estructuras para que trepen, áreas de descanso y rejas perimetrales para los encierros primarios. Puede ser necesario el reemplazo periódico de los objetos de madera, debido a su deterioro y dificultades para sanearlo.

Todos los encierros primarios deben mantenerse en buenas condiciones de uso para evitar los escapes o las lesiones en los animales, promover la comodidad física y facilitar la sanidad y el servicio. El equipo oxidado o enmohecido que amenace la sanidad o seguridad de los animales debe ser reparado o reemplazado.

Con frecuencia los roedores se hospedan sobre pisos de alambre que mejoran la sanidad de las jaulas, al permitir el paso de heces y orina para recolectarse en una charola colocada debajo. Sin embargo, algunas evidencias sugieren que los alojamientos sobre piso sólido y material de cama son preferidos por los roedores (Fullerton y Gilliatt 1967; Grover-Johnson y Spencer 1981; Ortman y otros 1983). Por lo tanto, se recomiendan las jaulas de piso sólido con lecho para los roedores. Para otras especies como perros y primates no-humanos con frecuencia se usan pisos recubiertos de vinil.

Refugios o Alojamientos al Aire Libre

Los refugios o alojamientos al aire libre tales como graneros, corrales, pastizales e islas son el método primario común de hospedaje para algunas especies y en muchas situaciones es aceptable. En la mayoría de los casos está vinculado al mantenimiento de animales en grupos.

Un manejo exitoso de las instalaciones al aire libre esta basado en las siguientes consideraciones:

- Cuando los animales son colocados por primera vez en alojamientos al aire libre se les debe brindar un período de aclimatación adecuado, previo al cambio de estacion.
- Entrenar a los animales para que cooperen con el personal de investigación, usar jaulas para restringir sus movimientos o para trasladarlos.
- Brindar un medio ambiente social apropiado para la especie.

- Agrupar animales compatibles.
- Ofrecer seguridad adecuada, mediante una reja perimetral o por otros medios.

Ambientes Naturales

Islas y Pastizales brindan la oportunidad de ofrecer un ambiente idóneo para la reproducción o el mantenimiento de los animales y para algunos tipos de investigación. Su utilización resulta en la pérdida parcial del control de nutrición, supervisión de salud y control de genealogía. Estas limitaciones son balanceadas por los beneficios de tener animales que viven en condiciones más naturales. En este escenario la inclusión, remoción o retorno de los animales a los grupos sociales deben hacerse con apropiada consideración de los efectos que tendrán sobre el individuo y sobre el grupo. Se debe asegurar el adecuado suministro de alimento y agua potable y de refugios naturales o construidos.

Recomendaciones de Espacio

La necesidad de espacio para los animales es un asunto complejo y considerar únicamente su peso o superficie corporal es insuficiente. Por esta razón, las recomendaciones de espacio que se presentan aquí están basadas en el juicio profesional y la experiencia. Estos espacios deben considerarse como recomendaciones de los tamaños apropiados de jaula para los animales alojados bajo las condiciones encontradas comúnmente en las instalaciones para hospedar animales de laboratorio. El alto, la estructuración del espacio y los medios de enriquecimiento afectan el uso que el animal pueda darle al mismo. Algunas especies se benefician más del espacio con paredes (ej. los roedores thigmotacticos), o de los refugios (ej. algunos primates del Nuevo Mundo) o de complejidades en la jaula (ej. gatos y chimpancés) que del simple aumento del área de piso (Anzaldo y otros 1994; Stricklin 1995). Por lo tanto, basar las recomendaciones para el tamaño de jaula sólo en el área de piso es inadecuado.

La asignación de espacios se debe revisar y en caso necesario modificar para resolver las situaciones individuales de alojamiento y satisfacer las necesidades de los animales (ej., para el cuidado prenatal y postnatal, los animales obesos y el alojamiento individual o de grupo). Para valorar la adecuación del hospedaje se pueden usar índices del rendimiento animal, tales como: salud, reproducción, crecimiento, conducta, actividad y utilización del espacio. El requerimiento mínimo es que el animal disponga de espacio suficiente para voltearse y para expresar las posturas normales, debe tener fácil acceso al agua y alimento y debe tener un área suficiente con material de lecho limpio y sin obstáculos para moverse y descansar. Para los gatos debe incluirse una superficie horizontal elevada para el descanso. A menudo también son deseables superficies elevadas de descanso para perros y primates no-humanos. Las superficies de descanso cercanas al piso, que no permiten al animal ocupar el espacio debajo de ellas, debe considerarse como parte del área de piso. El espacio ocupado por los comederos, bebederos, nidos y otros utensilios, no deben considerarse parte del área de piso.

La evaluación de las necesidades de espacio de los animales debe ser un proceso continuo. A lo largo del tiempo o en protocolos de largo plazo se deben considerar ajustes en el espacio de piso y de altura y cuando sea necesario modificarlos.

No está dentro de los objetivos y extensión de la *Guía* discutir los requerimientos de alojamiento para todas las especies empleadas en investigación científica. Para las especies que no se mencionan, se puede usar como punto de partida el espacio y la altura asignada a individuos de un tamaño equivalente y con un patrón de actividad y conducta similares, y

después hacer las adaptaciones necesarias tomando en consideración las necesidades específicas de la especie y del individuo.

Siempre que sea apropiado los animales gregarios deben alojarse en parejas o grupos en vez de solos, asumiendo que esta práctica no está contraindicada en el protocolo en cuestión y que no constituye un riesgo excesivo para los animales (Brain y Bention 1979).

Dependiendo de una variedad de factores biológicos y de conducta los animales hospedados en grupo pueden necesitar más o menos espacio total por animal que los animales alojados individualmente. Las recomendaciones que se ofrecen más adelante están basadas en la hipótesis de que el alojamiento en pares o en grupos generalmente es preferible al hospedaje individual, aún cuando los miembros del par o del grupo dispongan de un poco menos espacio por animal que si están solos. Por ejemplo, cada animal puede compartir el espacio asignado a los animales con los cuales se encuentra alojado. Aún mas, algunos roedores o cerdos hospedados en grupos compatibles buscan la compañía de otros y comparten el espacio acurrucándose a lo largo de las paredes, acostándose uno sobre el otro durante los períodos de descanso o reuniéndose en las áreas de retiro (White 1990; White y otros 1989). El ganado, ovejas y cabras exhiben la conducta de agruparse en hato o rebaño y buscan la asociación en grupo y contacto físico cercano. De manera contraria, algunos animales tales como varias especies de primates no-humanos puede necesitar espacio individual adicional cuando se encuentran alojados en grupo, para reducir el nivel de agresión.

La altura de los encierros puede ser importante para la conducta normal y los acomodamientos de postura de algunas especies. Para la altura de las jaulas se debe tomar en cuenta las posturas típicas del animal y proveer suficiente espacio para los componentes normales de la jaula, tales como comederos y bebederos, incluyendo las pipetas de estos últimos. Algunas especies de primates no-humanos usan las dimensiones verticales de la jaula en mayor medida que el piso, para ellos la posibilidad de colgarse de una percha y la disponibilidad de espacio suficiente para mantener todo el cuerpo por encima del piso de la jaula puede mejorar su bienestar.

La asignación del espacio para los animales debe basarse en los siguientes cuadros, sin embargo puede ser aumentado o disminuido de acuerdo a los criterios enlistados previamente y con la aprobación del CEICUAE.

En la Tabla 2.1. se muestran las recomendaciones del espacio asignado a las especies comunes de roedores alojados en grupos; si se alojan individualmente o exceden los pesos listados, podrían requerir de más espacio.

Tabla 1. Espacio Recomendado para Roedores de Laboratorio de Uso Común, Alojados en Grupo			
Animales	Peso Corporal g	Area de Piso/Animal cm²	Altura^a cm
Ratones	<10	38.71	12.7
	Hasta 15	51.61	12.7
	Hasta 25	77.42	12.7
	>25 ^b	96.77	12.7
Ratas	<100	109.68	17.78
	Hasta 200	148.39	17.78
	Hasta 300	187.1	17.78
	Hasta 400	258.1	17.78
	Hasta 500	387.1	17.78
	>500 ^b	451.61	17.78
Hamsteres	<60	64.52	15.24
	Hasta 80	83.87	15.24
	Hasta 100	103.23	15.24
	>100 ^b	122.58	15.24
Cobayos	≤350	387.1	17.78
	>350 ^b	651.6	17.78
a. De piso a techo de la jaula b. Los animales mas grandes pueden requerir mas espacio para satisfacer los estándares de rendimiento (vea el texto)			

La Tabla 2 agrupa las asignaciones de espacio recomendadas para otros animales de laboratorio comunes; en general, están basadas en las necesidades de animales alojados individualmente. Los espacios asignados deben ser reevaluados para brindar el enriquecimiento del encierro primario o para acomodar a los animales cuyos pesos excedan los indicados. Para el hospedaje en grupo, la determinación del espacio total necesario no está basado obligatoriamente en la suma de las cantidades recomendadas para el alojamiento individual de animales. El espacio para animales alojados en grupo debe estar basado en las necesidades individuales de la especie, conducta, compatibilidad de los animales, número de animales y metas de las circunstancias del alojamiento.

Tabla 2. Espacio Recomendado para Conejos, Gatos, Perros, Primates No-humanos y Aves.

Animales	Peso Corporal Kg	Area de Piso/Animal cm² m²	Altura^b cm
Conejos	<2	0.1394	35.56
	Hasta 4	0.2787	35.56
	Hasta 5.4	0.3716	35.56
	>5.4 ^e	0.4645	35.56
Gatos	≤4 ^e	0.2787	60.96
	>15	0.3716	60.96
Perros ^d	<15	0.7432	--
	Hasta 30	1.1148	--
	>30 ^e	2.2297	--
Monos ^{e,f} (incluyendo babuinos)	Hasta 1	0.1486	50.8
	Hasta 3	0.2787	76.2
	Hasta 10	0.3716	76.2
	Hasta 15	0.5574	81.28
	Hasta 25	0.7432	91.44
	Hasta 30	0.9290	116.84
	>30 ^e	1.3935	116.84
Simios(Pongidae) ^f	Hasta 20	0.9290	139.7
	Hasta 35	1.3935	152.4
	>35 ^e	2.3226	213.36
Pichones ^h	--	0.0743	--
Codornices ^h	--	0.0232	--
Pollos ^h	<0.25	0.0232	--
	Hasta 0.5	0.0465	--
	Hasta 1.5	0.0929	--
	Hasta 3.0	0.1858	--
	>3.0 ^e	0.2787	--

b. De piso a techo de la jaula.

c. Los animales mas grandes pueden requerir mas espacio para lograr los estándares de

rendimiento (vea el texto).

d. Estas recomendaciones pueden requerir modificaciones de acuerdo a la conformación corporal de los individuos y de las razas. Algunos perros, especialmente aquellos que están cerca del límite superior de cada uno de los rangos de peso pueden requerir mas espacio para asegurar el cumplimiento de las regulaciones del *Animal Welfare Act.* Estas regulaciones (CFR 1985) obligan a que la altura de las jaulas sea suficiente para permitir que su ocupante se ponga de pie cómodamente y que el área de piso mínima en pies cuadrados sea igual al cuadrado de la suma de la longitud del perro medida desde la punta de la nariz hasta la base de la cola, en pulgadas, mas seis (para convertir pies cuadrados en metros cuadrados multiplique por 0.0929030).

e. Las siguientes familias de primates pueden requerir mas altura que otros monos: Callitrichidae, Cebidae, Cercopithecidae y Papio. Los babuinos pueden requerir meyor altura que otros monos.

f. Para algunas especies (ej. Brachyteles, Hylobates, Symphalangus, Pongo y Pan) la altura de la jaula debe ser tal que el animal extendido pueda columpiarse del techo de la jaula sin que sus pies toquen el piso. El diseño del techo debe promover el movimiento braquial.

g. Los grandes simios que pesan mas de 50 Kg. pueden alojarse con mayor efectividad en estructuras permanentes de tabique o concreto con paneles de barrotes que en jaulas convencionales.

h. La altura de las jaulas debe ser suficiente para que los animales puedan pararse erectos sobre el piso de la jaula.

La Tabla 3 muestra las asignaciones de espacio recomendadas para los animales de granja comúnmente utilizados en el laboratorio. Cuando los animales se alojan individualmente o en grupos exceden los pesos enlistados, podría requerirse mas espacio. Si se alojan en grupo se debe brindar un acceso adecuado al agua y al alimento (Larson y Hegg 1976; Midwest Plan Service 1987).

Tabla 3. Espacio Recomendado para las Especies de Granja Utilizadas Comúnmente

Animal/Encierro	Peso Corporal Kg	Area de Piso/Animal m ²
Ovinos y Caprinos		
1	<25	0.9290
	Hasta 50	1.3935
	>50 ^b	1.8580
2-5	<25	0.7897
	Hasta 50	1.1613
	>50 ^b	1.5794
>5	<25	0.6968
	Hasta 50	1.0498
	>50 ^b	1.3935

Cerdos		
1	<15	0.7432
	Hasta 25	1.1148
	Hasta 50	1.3935
	Hasta 100	2.2297
	Hasta 200	4.4593
	>200 ^b	5.5741
2-5	<25	0.5574
	Hasta 50	0.9290
	Hasta 100	1.8580
	Hasta 200	3.7161
	>200 ^b	4.8310
	>5	4.4593
>5	<25	0.5574
	Hasta 50	0.8361
	Hasta 100	1.6722
	Hasta 200	3.3445
	>200 ^b	4.4593
Ganado		
1	<75	2.2297
	Hasta 200	4.4593
	Hasta 350	6.6890
	Hasta 500	8.9187
	Hasta 650	11.5110
	>650 ^b	13.3780
2-5	<75	1.8580
	Hasta 200	3.7161
	Hasta 350	5.5742
	Hasta 500	7.4322
	Hasta 650	9.7548
	>650 ^b	11.1483
>5	<75	1.6722
	Hasta 200	3.3445
	Hasta 350	5.0167
	Hasta 500	6.6890
	Hasta 650	8.6310
	>650 ^b	10.0335
Caballos	--	13.3780
Ponies		
1-4	--	6.6890

>4/Pen	≤ 200	5.5742
	>200 ^b	6.6890
b. Los animales mas grandes pueden requerir mas espacio para lograr los estándares de rendimiento		

Temperatura y Humedad

El mantenimiento de la temperatura corporal dentro de los límites de la variación normal es esencial para el bienestar de los homeótermos. Generalmente la exposición de los animales no adaptados a temperaturas superiores a los 29.4° C o por debajo de 4.4° C, sin que tengan acceso a protección en un refugio u otro mecanismo, pueden producir efectos clínicos (Gordon 1990), que pueden poner en peligro la vida. Los animales se pueden adaptar a condiciones extremas mediante mecanismos morfológicos, fisiológicos y de conducta, pero tales adaptaciones llevan tiempo y pueden alterar los resultados experimentales o afectar los rendimientos (Garrard y otros 1974; Gordon 1993; Pennycuik 1967).

La temperatura ambiental y la humedad relativa pueden depender del diseño y practicas del alojamiento y pueden ser considerablemente diferente entre los encierros primario y secundario. Los factores que contribuyen a la variación de temperatura y humedad, incluyen los materiales y la construcción del alojamiento, uso de filtros, número de animales por jaula, ventilación forzada de los encierros, frecuencia del cambio de material de lecho y tipo de lecho.

Algunas situaciones pueden requerir temperaturas ambientales mas altas, tales como la recuperación post-operatoria, el mantenimiento de pollitos recién nacidos, el hospedaje de roedores sin pelo y de neonatos que han sido separados de sus madres. La magnitud del incremento de temperatura depende de las circunstancias del alojamiento, algunas veces es suficiente elevar la temperatura en el encierro primario en vez de elevarla en el encierro secundario.

Debido a la carencia de estudios bien controlados, las temperaturas de bulbo seco recomendadas (Tabla 2.4) para varias especies animales están basadas en el criterio profesional y la experiencia. En el caso de animales en espacios confinados, se debe mantener al mínimo el rango de flujo diario de la temperatura, para evitar grandes demandas repetidas de los procesos metabólicos y de conducta, necesarios para compensar los cambios térmicos en el medio ambiente. La humedad relativa también se debe controlar, pero no tan estrechamente como la temperatura; el rango aceptable de humedad relativa es de 30 a 70%. Los rangos de temperatura mostrados en la Tabla 2.4 no podrían ser aplicables a animales silvestres cautivos, animales silvestres mantenidos en su medio ambiente natural o animales en encierros al aire libre que no hayan tenido la oportunidad de adaptarse mediante la exposición a los cambios estacionales de las condiciones ambientales.

Tabla 4. Temperaturas de Bulbo Seco Recomendadas para los Animales de Laboratorio Comunes

Especie Animal	Temperatura de Bulbo Seco °C
----------------	------------------------------

Ratón, rata, hámster, gerbo, cuyos conejos	18-26 16-22
Gato, perro y primates no-humanos	18-29
Animales de Granja y Aves	16-27

Ventilación

Los propósitos de la ventilación son suministrar oxígeno adecuadamente; eliminar la carga térmica producto de la respiración animal, la iluminación y los aparatos; diluir los gases y partículas contaminantes; ajustar el contenido de humedad del aire del cuarto; y en donde sea apropiado crear diferencia de presión de aire entre espacios adyacentes. Sin embargo, el establecer un índice de ventilación en el cuarto no asegura la adecuación de la ventilación en el encierro primario del animal y por lo tanto no garantiza la calidad del microambiente. El grado de movimiento del aire o corriente de aire (chiflón) causa incomodidad y consecuencias biológicas, que en la mayoría de las especies, aun no han sido establecidas. El volumen y las características físicas del aire suministrado a un cuarto y su patrón de difusión, influyen en la ventilación del encierro primario del animal y por eso son importantes determinantes de su medio ambiente. El tipo y la localización de los difusores del suministro de aire, las ventanillas de salida del mismo y su interrelación con el número, localización, disposición y tipo de encierro primario en el cuarto u otro encierro secundario, afecta la eficiencia de la ventilación del encierro primario y por lo tanto deben tomarse en consideración.

Se pueden reducir la concentración de gases tóxicos y de aquellos que causan olor en el aire de los cuartos de animales con el cambio frecuente de material de cama y el lavado de jaulas, junto con prácticas de cuidado, tales como: baja densidad de población animal y temperatura y humedad medio ambiental más bajas en los cuartos de animales. El tratamiento del aire reciclado tanto para eliminar partículas así como contaminantes gaseosos es caro y puede resultar ineficiente si no se le da un mantenimiento suficiente y apropiado a los sistemas de filtración. Estos sistemas deben ser mantenidos debidamente y verificados para mantener al máximo su efectividad. Para que la operación de cualquier sistema HVAC sea exitosa se requiere mantenimiento y evaluación regulares, incluyendo la evaluación de su funcionamiento a nivel del encierro secundario; estas evaluaciones deben incluir el volumen de entrada y salida de aire y cuando sea aplicable los diferenciales de presión estática.

Iluminación

La luz puede afectar la morfología, fisiología y conducta de varios animales (Brainard y otros 1986; Erkert y Grober 1986; Newbold y otros 1991; Tucker y otros 1984). Los fotoestresores potenciales son: fotoperiodo, fotointensidad y calidad espectral de la luz (Stoskopf 1983) inapropiados, al establecer los niveles de iluminación apropiados para los cuartos de ocupación animal, se deben considerar numerosos factores que puedan afectar las necesidades que tienen los animales; entre estos se incluyen la intensidad de la luz; la duración de la exposición, la longitud de onda, la exposición previa, la pigmentación del animal, las horas de exposición en relación al ciclo circadiano, la temperatura corporal, el status hormonal, la edad, especie, sexo, variedad o linaje del animal (Brainard 1989; Duncan y O'Steen 1985; O'Steen 1980; Saltarelli y Coppola 1979; Semple-Rowland y Dawson 1987; Wax 1977).

En general, la luz debe difundirse a través de las áreas de alojamiento animal y brindar suficiente iluminación para el bienestar de los animales y para permitir las buenas prácticas de su atención, inspección adecuada, incluyendo las jaulas colocadas en el entrepaño más inferior del estante; y de las condiciones de trabajo seguras para el personal. La luz en los cuartos de los animales debe ser suficiente para una visión adecuada y para la regulación neuroendócrina de los ciclos circadianos y diurnos (Brainard 1989).

En muchas especies animales el fotoperíodo es un regulador crítico de la conducta reproductiva (Brainard y otros 1986; Cherry 1987) y también puede alterar la ganancia de peso corporal y la ingestión de alimento (Tucker y otros 1984). Se debe evitar o reducir al mínimo la exposición accidental a la luz durante el ciclo de oscuridad. Debido a que algunas especies no comen en condiciones de baja intensidad de luz u oscuridad, tales horarios de iluminación se deben limitar a una duración que no comprometa el bienestar de los animales. Se debe usar un sistema de control de la iluminación que asegure un ciclo diurno regular y el funcionamiento del reloj interruptor debe verificarse periódicamente para asegurar un ciclo apropiado.

Los animales de laboratorio de uso más común son nocturnos. Debido a que la rata albina es más susceptible a la retinopatía fototóxica que otras especies se le ha utilizado como referencia para establecer los niveles de iluminación de los cuartos (Lanum 1979). No existen datos basados en estudios científicos acerca de las intensidades de luz para otras especies. Parece ser que niveles de luz de aproximadamente 325 luxes (30 bujías pie) a 1 m. aproximadamente (3.3 pies) del piso son suficientes para el cuidado de los animales, sin causar signos clínicos de retinopatía fototóxica en ratas albinas (Bellhorn 1980), y se ha encontrado que niveles superiores a 400 luxes (37 bujías pie) medidas en un cuarto vacío a 1 metro del piso son satisfactorios para los roedores siempre y cuando se sigan prácticas de manejo que eviten daño retinal en animales albinos (Clough 1982). Sin embargo, la experiencia previa del individuo puede afectar su sensibilidad a la fototoxicidad; se ha reportado que de acuerdo a evidencias histológicas, morfométricas y electrofisiológicas, la luz de 130-270 luxes por encima de la intensidad en que ha sido criado es cercana al umbral de daño retinal en algunas ratas albinas (Semple-Rowland y Dawson 1987). Algunas guías recomiendan una intensidad de luz tan baja como 40 luxes medidos a nivel de una caja intermedia del estante (NASA 1988). Los ratones jóvenes albinos y pigmentados, prefieren iluminaciones mucho más bajas que los adultos (Wax 1977), aún cuando la mayoría de las veces el potencial daño retinal asociado con el alojamiento de estos roedores en niveles de luz más altos es reversible. Por lo tanto, la intensidad de luz a nivel de la jaula, para animales que han mostrado ser susceptibles a la retinopatía fototóxica, debe ser entre 130 y 325 luxes.

Se pueden usar prácticas de cuidado para reducir la estimulación lumínica inapropiada de los animales; tales como rotar la posición de la jaula en relación con la fuente de luz (Greenman y otros 1982) u ofrecer a los animales formas de modificar por sí mismos la exposición a la luz por medios de conducta (ej., haciendo túneles o escondiéndose en estructuras). Se puede considerar la instalación de controles de intensidad variable de luz, como un medio de asegurar que las intensidades sean consistentes con las necesidades de los animales y del personal que trabaja en los cuartos de los mismos y con el ahorro de energía. Tales controles, deben tener alguna forma de escala vernier y permitir el ajuste fijo de la intensidad y no usarse meramente como un interruptor de encendido y apagado. El manual de la *Illuminating Engineering Society of North America* (IESNA) (Kaufman 1984, 1987) puede ayudar en la toma de decisiones concernientes a la uniformidad de la

iluminación, índice de emisión de calor, mamparas, control de los fulgores deslumbrantes, reflejos, vida media, generación de calor y selección de balastras.

Ruido

El ruido que producen los animales y las actividades de cuidado son inherentes a la operación de un bioterio (Pfaff y Stecker 1976). Por lo tanto, el control del ruido se debe considerar en el diseño y operación de las instalaciones (Pekrul 1991). La evaluación de los efectos potenciales del ruido sobre los animales justifica la consideración de la intensidad, frecuencia, rapidez de inicio, duración y vibración potencial del sonido y el rango de audición, historia de la exposición al ruido y susceptibilidad a su efecto de la especie, tipo o subtipo.

La separación de las áreas de ocupación humana y animal reduce al mínimo las molestias a ambos ocupantes de las instalaciones. Los animales ruidosos, como los perros, cerdos, caprinos, y primates no-humanos deben alojarse lejos de los animales silenciosos como los roedores, conejos y gatos. Los ambientes deben estar diseñados para alojar animales ruidosos en vez de recurrir a métodos de reducción del ruido. La exposición a sonidos más altos de 85 dB puede tener tanto efectos auditivos como no auditivos (Fletcher 1976; Peterson 1980), que incluyen eosinopenia y aumento del peso de las adrenales y (Geber y otros 1966; Nayfield y Besch 1981) disminución de la fertilidad en roedores (Zondek y Tamari 1964), e incremento de la presión sanguínea en primates no-humanos (Peterson y otros 1981). Muchas especies pueden oír frecuencias de sonidos que son inaudibles para los seres humanos (Brown y Pye 1975; Warfield 1973), por eso se deben considerar cuidadosamente los efectos potenciales de equipo y materiales que producen ruido en el rango de audición de los animales cercanos, tales como terminales de repetición de videos (Sales 1991). Las actividades que puedan ser ruidosas deben realizarse, en la medida de lo posible, en cuartos o áreas separadas de las de alojamiento y uso de los animalesl.

Debido a que los cambios en el patrón de la exposición al sonido tienen diferentes efectos en los diferentes animales (Armario y otros 1985; Clough 1982) el personal debe tratar de reducir al mínimo la producción de ruido innecesario. Se puede reducir al mínimo el ruido intermitente y excesivo entrenando al personal en prácticas alternativas a las que producen ruido y con el uso de rodajas y defensas acojinadas en los vehículos y estantes. No se deben usar radares, alarmas y otros generadores de sonidos en los cuartos de los animales, a menos que sean parte de un protocolo aprobado o de un programa de enriquecimiento del medio ambiente.

2.3. MANEJO CONDUCTA

Estructura del Medio Ambiente

La estructura del medio ambiente esta integrada por los componentes del encierro primario, jaula, equipo de enriquecimiento ambiental, objetos para que manipulen los animales y complejidades de las jaulas. Dependiendo de las especies animales y de su uso, la estructura del medio ambiente debe incluir plataformas de descanso, entrepaños o perchas, juguetes, utensilios de entretenimiento, materiales para nido, túneles, columpios y otros objetos que brinden oportunidades para la expresión de posturas y actividades típicas de la especie y el bienestar del animal. En años recientes se ha aprendido mucho acerca de la historia natural y de las necesidades ambientales de muchos animales, sin embargo, se promueve la continua investigación científica de aquellos ambientes que aumenten el bienestar de los animales de experimentación.

Ambiente Social

Se deben tomar en consideración las necesidades sociales de los animales. El medio ambiente social usualmente comprende la comunicación y el contacto físico entre individuos de la misma especie (conespecíficos) aunque puede inducir la comunicación sin contacto entre los individuos a través de señas (visual), señales olfatorias o auditivas. Los animales gregarios deben alojarse con sus conespecíficos, siempre y cuando sea oportuno y sean compatibles. Por ejemplo, agrupar a primates gregarios o especies caninas es con frecuencia benéfico para ellos si los grupos están formados por individuos compatibles. Son esenciales las interacciones sociales apropiadas entre conespecíficos para el desarrollo normal de muchas especies. La compañía social puede aminorar una situación estresante (Gust y otros 1994), reducir las anormalidades de conducta (Reinhardt y otros 1988, 1989), aumentar las posibilidades de ejercicio (Whary y otros 1993) y expandir las conductas típicas de la especie y la estimulación cognoscitiva. Deben evaluarse factores tales como la densidad de población, la habilidad de dispersarse, la familiaridad inicial entre los animales y la estratificación social para formar los grupos animales (Borer y otros 1988; Diamond y otros 1987; Drickamer 1977; Harvey y Chevins 1987; Ortiz y otros 1985; Vandenberg 1986, 1989). Al seleccionar un medio ambiente social conveniente se debe prestar atención a si los animales son naturalmente territoriales o comunales, o si deben alojarse en parejas o en grupos; la comprensión de la conducta social natural típica de la especie facilita un alojamiento socialmente exitoso.

Sin embargo, no todos los miembros de una misma especie gregaria pueden o deben mantenerse en sociedad, razones experimentales, de salud o conducta podrían impedir el éxito de este tipo de alojamiento. El agrupamiento puede incrementar la posibilidad de heridas por peleas (Bayne y otros 1995), aumentar la susceptibilidad a desordenes metabólicos como la aterosclerosis (Kaplan y otros 1982) y alterar la fisiología y conducta (Bernstein 1964; Bernstein y otros 1974 a, b). Además, se han observado en varias especies diferencias en compatibilidad debidas al sexo (Crockett y otros 1994; Grant y Macintosh 1963; Vandenberg 1971; vom Saal 1984). Estos riesgos del alojamiento grupal se reducen en gran medida si los animales son socialmente compatibles y las unidades sociales estables.

Es deseable que los animales gregarios se hospeden en grupos; sin embargo, cuando tengan que alojarse solos se deben brindar otras formas de enriquecimiento, tales como la interacción inocua y positiva con las personas que los cuidan y el enriquecimiento de la estructura medio ambiental, para compensar la ausencia de otros animales.

Actividad

La actividad de los animales implica típicamente la actividad motriz, pero también incluye la actividad cognoscitiva y la interacción social. Los animales mantenidos en el laboratorio pueden tener un patrón de actividad más restringido que aquellos que se encuentran en estado libre. Al evaluar la adecuación del alojamiento se debe considerar la actividad motriz del animal, incluyendo los desplazamientos en sentido vertical y constatar que la cantidad y calidad de la actividad desplegada por el animal sean apropiadas. Se debe evitar forzar la actividad por otras razones que no sean terapéuticas o para cumplir los objetivos del protocolo experimental. En la mayoría de las especies se considera indeseable la conducta repetitiva, sin una meta o propósito y que excluye la posibilidad de otras

conductas (AWIC 1992; Bayne 1991; NRC por imprimirse; también vea el capítulo "Enriquecimiento del Medio Ambiente" en el Apéndice A).

Se deben dar a los animales oportunidades de exhibir los patrones típicos de actividad de su especie. Los perros, gatos y otros muchos animales domésticos se benefician de la interacción con las personas (Rollin 1990). Se les puede brindar la oportunidad de actividad a los perros caminandolos con una correa, teniendo acceso a una perrera o cambiandolos de área (como a un cuarto, a una jaula más grande, o a una perrera al aire libre), para que tenga contacto social, juegue o explore. A menudo las jaulas se usan para el alojamiento de los perros a corto plazo, para atención veterinaria y para propósitos de investigación, pero se recomienda el uso de perreras o corrales y otras áreas que no sean jaulas y que ofrezcan mas espacio para el movimiento (Wolff y Rupert 1991). Para los animales de granja grandes, tales como caballos, ovejas y ganado, son deseables áreas de relajamiento, terrenos de ejercicio y pastizales.

2.4. MANEJO DIARIO

Alimentación

Los animales deben ser alimentados con dietas apetitosas, no-contaminadas y nutricionalmente adecuadas, diariamente o de acuerdo a sus requerimientos particulares, a menos que el protocolo en el que están siendo empleados lo demande de otra manera. Los gerentes de las colonias de animales deben emplear su buen juicio al comprar, transportar, almacenar y manipular los alimentos para reducir al mínimo la introducción de enfermedades, parásitos y vectores potenciales de enfermedades (ej., insectos y otras plagas) y contaminantes químicos a las colonias animales.

Agua

Diariamente, los animales deben tener acceso a agua potable no contaminada y de acuerdo a sus necesidades particulares. La calidad y definición de agua potable puede variar según la localidad (Homberger y otros 1993). Puede ser necesaria la determinación periódica del pH, dureza y contaminación química y microbiológica para asegurar que la calidad de el agua es aceptable, especialmente si los componentes normales de el agua de una localidad dada pueden influir en los resultados del estudio en que se use esa agua. Cuando los protocolos experimentales requieren agua altamente pura, se le puede tratar o purificar para eliminar o reducir al mínimo la contaminación. Se debe considerar cuidadosamente la selección del tratamiento del agua porque muchas de ellas tienen el potencial de causar alteraciones fisiológicas, cambiar la microflora o alterar los resultados experimentales (Fidler 1977; Hall y otros 1980; Hermann y otros 1982; Homberger y otros 1993). Por ejemplo, la clorinación del agua suministrada puede ser útil para algunas especies, pero tóxico para otras (ej. animales acuáticos).

Los utensilios para dar de beber, tales como las pipetas de los bebederos y las válvulas automáticas, se deben revisar diariamente para verificar un adecuado mantenimiento, limpieza y operación. En ocasiones, los animales tienen que ser entrenados a utilizar los componentes de los sistemas de provisión automática. Es mejor cambiar bebederos que rellenarlos, debido a la potencial contaminación microbiológica cruzada; pero en caso de rellenar bebederos se debe tener cuidado de regresarlos a la misma jaula de donde fueron tomados. Los animales alojados al aire libre podrían tener acceso a otra agua que no sea la suministrada deliberadamente, como por ejemplo la de arroyuelos o charcos formados por

lluvia, se debe tener cuidado de que tales fuentes adicionales de agua no constituyan un peligro, aunque su disponibilidad no necesita evitarse rutinariamente.

Lecho

El material de cama de los animales es un factor controlable del medio ambiente, que puede influir en su bienestar y en los resultados experimentales. El veterinario o el gerente de la casa de los animales, de acuerdo con los investigadores, deben seleccionar el material de cama mas apropiado. Ningún lecho es ideal para ninguna especie en particular bajo todas las condiciones de manejo y experimentales y ninguna es ideal para todas la especies (ej. el material de cama que permite amadrigarse solo se recomienda para algunas especies).

Varios autores han descrito las características deseables del lecho y los medios para evaluarlo (Gibson y otros 1987; Jones 1977; Kraft 1980; Thigpen y otros 1989; Weichbrod y otros 1986). Se han utilizado camas de maderas blandas, aunque el uso de madera blanda picada o de sus virutas, sin tratamiento, está contraindicado en algunos protocolos, debido a que puede afectar el metabolismo animal (Vesell 1967; Vesell y otros 1973, 1976). No se recomiendan las virutas de cedro porque emiten hidrocarburos aromáticos inductores de las enzimas microsomales hepáticas y citotoxicidad (Torronen y otros 1989; Weichbrod y otros 1986) y se ha reportado que aumentan la incidencia de cáncer (Jacobs y Dieter 1978; Vlahakis 1977). Para reducir la concentración de hidrocarburos aromáticos y poder prevenir este problema se ha usado el tratamiento con calor, aplicado a estos materiales previo a su utilización. Al comprar los materiales de lecho se deben examinar los métodos de manufactura, control de calidad y almacenamiento seguido por los fabricantes.

El lecho no se debe colocar sobre el piso durante el transporte y almacenamiento sino en tarimas, estantes o carros, de tal manera que se preserve su calidad y se reduzca al mínimo la contaminación. Durante la esterilización en autoclave la cama puede absorber humedad, resultando en una menor capacidad de absorción y favoreciendo el crecimiento de microorganismos; por lo tanto, se deben dar los tiempos de secado y las condiciones de almacenaje apropiadas.

La cantidad de lecho en la jaula debe ser suficiente para que los animales se mantengan secos durante el lapso comprendido entre los cambios y en el caso de los animales de laboratorio pequeños se debe tener cuidado de que las pipetas de los bebederos no toquen el lecho, porque esto causa derrame de agua dentro de la jaula.

Sanidad

Se entiende por sanidad el mantenimiento de condiciones conducentes a la salud y comprende el cambio de cama (como sea apropiado), la limpieza y la desinfección. La limpieza elimina las cantidades excesivas de desperdicios y mugre y la desinfección reduce o elimina las concentraciones inaceptables de microorganismos.

La frecuencia e intensidad de la limpieza dependerán de las necesidades para brindar al animal un medio ambiente saludable, de acuerdo a sus características fisiológicas y conducta normal. Los métodos y frecuencia sanitarios varían de acuerdo a muchos factores, entre ellos el tamaño, tipo y propiedades físicas del encierro; el tipo, número, tamaño, edad y la condición reproductiva de los animales; el tipo y uso de los materiales de cama; la temperatura y humedad relativa; la naturaleza de los materiales que crean la necesidad de la sanidad; la fisiología normal y las características de conducta de los animales; y la rapidez con la que se ensucian las superficies del encierro. Algunos sistemas de alojamiento o

protocolos experimentales pueden requerir técnicas de manejo específicos, tales como la manipulación aséptica o la modificación de la frecuencia del cambio de cama. En las instalaciones usadas para alojar animales no se deben usar agentes que enmascaren los olores, no pueden sustituirse las buenas prácticas de sanidad o ventilación adecuada y tampoco exponer a los animales a compuestos volátiles que podrían modificar los procesos fisiológicos y metabólicos básicos.

Cambio de Lecho

La cama sucia debe retirarse y reemplazarse por material limpio, tan frecuente como sea necesario para mantener a los animales limpios y secos. La frecuencia del cambio depende del criterio profesional del personal que cuida a los animales, de acuerdo con el investigador y depende de factores tales como el tamaño y número de animales en el encierro primario, el tamaño del encierro, la producción de heces y orina, la apariencia y grado de humedad de la cama y las condiciones experimentales; ej., cirugía o debilitamiento que pueden limitar el movimiento o acceso de los animales a las áreas de la jaula que no están sucias con heces u orina. No existe de manera absoluta una frecuencia mínima de cambio de lecho, pero típicamente varía desde diario hasta una vez por semana. En algunos casos está contraindicado el cambio frecuente de cama, como en los períodos inmediatamente anteriores y posteriores al parto, cuando las feromonas son esenciales para el éxito de la reproducción o bien cuando los objetivos de la investigación no lo permitan.

Limpieza y Desinfección de los Encierros Primarios

Para mantener suficientemente limpias las superficies de corrales y perreras, usualmente es adecuado el lavado frecuente con manguera y agua junto con el uso periódico de detergentes y desinfectantes, si las excretas animales son arrastradas con el agua, esto tendrá que hacerse por lo menos una vez al día. Durante el lavado los animales deben mantenerse secos. Al fijar la hora en que se realiza la limpieza de corrales y perreras se deben tomar en cuenta los procesos fisiológicos y la conducta normal de los animales, por ejemplo, el reflejo gastrocólico que ocurre en los animales después de comer resulta en la consecuente defecación.

La frecuencia de saneamiento de jaulas, estantes y equipo auxiliar como bebederos y comederos está determinado, en alguna medida, por los tipos de jaulas que se usan y las prácticas de manejo que se sigan, incluyendo el cambio regular de cama de contacto o de goteo, el lavado a chorro intermitente de las charolas colocadas debajo de las jaulas suspendidas, el uso de jaulas con pisos perforados o de barras. En general, los encierros y sus accesorios como tapas deben sanitizarse por lo menos cada dos semanas. Las jaulas de piso sólido y las pipetas de los bebederos normalmente requieren sanitización por lo menos una vez por semana. Algunos tipos de jaulas y de estantes pueden requerir limpieza o desinfección menos frecuente, por ejemplo, jaulas grandes con bajas densidades de población y frecuentes cambios de cama, jaulas que alojan animales gnotobióticos con cambios frecuentes de cama, jaulas ventiladas individualmente y jaulas usadas en circunstancias especiales. Otras circunstancias como el alojamiento en aisladores o encierros mas densamente poblados pueden requerir una limpieza mas frecuente. Los conejos y algunos roedores como los cobayos y los hámsteres producen orina con altas concentraciones de proteínas y minerales que con frecuencia se adhiere a la superficie de la jaula, haciendo necesario el tratamiento con soluciones ácidas antes del lavado.

Los encierros primarios se pueden desinfectar con sustancias químicas, agua caliente o una combinación de ambos. Los tiempos y las condiciones de lavado deben ser suficientes para matar las formas vegetativas de las bacterias comunes y otros organismos que presumiblemente pueden ser controlables con los programas sanitarios. Cuando se usa agua caliente sola, lo que desinfecta es el efecto combinado del calor y el período de tiempo que una temperatura dada es aplicada (factor de calor acumulado) sobre la superficie del objeto, se puede obtener el mismo factor de calor acumulado exponiendo los organismos a temperaturas muy altas durante lapsos de exposición cortos o bien exponiéndolos a temperaturas mas bajas pero por períodos de tiempo mas prolongados (Wardrip y otros 1994). Se puede lograr un lavado y enjuagado eficaces con agua a temperaturas de 61.7 a 82.2° C o superiores. El requerimiento tradicional de 82.2° C para la temperatura del agua de enjuagado se refiere al agua en el tanque o en la tubería de aspersión. Los detergentes y desinfectantes químicos mejoran la efectividad del agua caliente pero las superficies deben enjuagarse escrupulosamente antes de volver a usar el equipo.

El lavado y desinfección a mano, con agua caliente y detergente o desinfectante, de las jaulas y equipos puede ser eficaz, pero requiere una atención detallada. Es de particular importancia asegurarse que las superficies sean enjuagadas y estén exentas de residuos químicos y que el personal use el equipo apropiado para protegerse de la exposición al agua caliente y a los agentes químicos utilizados en el proceso.

Los bebederos, pipetas, tapones y otras piezas pequeñas de equipo deben lavarse con agua caliente, detergentes y cuando sea apropiado agentes químicos para destruir los microorganismos.

Si se utilizan sistemas de provisión automática de agua se recomienda usar algún mecanismo para asegurar que los microorganismos y la suciedad no se acumulen en los elementos del sistema. Estos mecanismos pueden ser: limpiar el sistema periódicamente con grandes volúmenes de agua o con los agentes químicos apropiados seguido de un cuidadoso enjuagado; también son eficaces los circuitos de recirculación constante que utilicen filtros mantenidos adecuadamente, luz ultravioleta u otros recursos para esterilizar el agua recirculada.

Los métodos convencionales de limpieza y desinfección son adecuados para la mayor parte del equipo usado en el cuidado de animales. Sin embargo, cuando estén presentes microorganismos patógenos o se mantengan animales con una flora microbiana altamente definida o el sistema inmune esté comprometido puede ser necesario esterilizar las jaulas y el equipo auxiliar después de haberlo lavado y desinfectado. Los esterilizadores deben ser calibrados y verificados regularmente para asegurar su efectividad y seguridad de operación.

Limpieza y Desinfección de los Encierros Secundarios

Todos los componentes de las instalaciones para animales, incluyendo los cuartos de animales y los espacios de apoyo (como áreas de almacenamiento, instalaciones para el lavado de jaulas, pasillos y salas de procedimientos) deben limpiarse regularmente y desinfectarse de acuerdo a las circunstancias y con una frecuencia basada en el uso del área y en la naturaleza de la posible contaminación.

Cuando las áreas tengan diferentes riesgos de contaminación, los utensilios de limpieza deberán asignarse a cada una de ellas y no trasladarse de una a otra. Estos utensilios de limpieza deben ser aseados regularmente y estar fabricados con materiales resistentes a la corrosión, los utensilios desgastados deben reemplazarse regularmente. Los utensilios

deben guardarse de una forma organizada y limpia que facilite su secado y reduzca al mínimo la contaminación.

Evaluación de la Efectividad Sanitaria

La evaluación de las prácticas sanitarias debe ser adecuada a los procesos y materiales utilizados, puede incluir la inspección visual de los materiales, la verificación de la temperatura del agua, y el análisis microbiológico. La intensidad de los olores animales, particularmente del amoníaco no debe usarse como único medio de constatar la efectividad del programa sanitario. La decisión de modificar la frecuencia del cambio de cama de las jaulas o del lavado de las mismas, debe basarse en factores tales como la concentración de amoníaco, la apariencia de las jaulas, la condición del lecho y el número y tamaño de los animales hospedados en la jaula.

Medicina preventiva

La prevención de enfermedades es un componente esencial de la atención médico veterinaria integral. Los programas de medicina preventiva eficaces aumentan el valor de los animales para la investigación, al mantener animales sanos y reducir al mínimo las fuentes de variación ajenas al ensayo, asociadas con enfermedades e infecciones inaparentes. Estos programas reúnen diversas combinaciones de políticas, procedimientos y prácticas relacionadas con la cuarentena, estabilización y la separación de los animales por especie, fuentes de origen y estado de salud. Para tal fin, el Centro de Investigaciones deberá disponer de instalaciones separadas para aislar a los animales que presenten síntomas o se sospeche de algún trastorno a nivel sanitario, que pueda poner en peligro al hombre y a los otros animales del lugar.

Cuarentena y separación

Cuarentena es la separación de los animales recién llegados de aquellos previamente alojados en las instalaciones, en tanto se haya determinado el estado de salud y de preferencia la condición microbiológica de los primeros. Una cuarentena eficaz disminuye al mínimo la posibilidad de introducir patógenos en una colonia establecida. Cuando los animales se obtienen de múltiples sitios o fuentes ya sean comerciales o institucionales, que difieren en su componente patogénico, puede ser esencial la separación intraespecie

El personal médico veterinario debe observar procedimientos para evaluar la salud y en casos apropiados diagnosticar los microorganismos patógenos de los animales recién llegados. Los procedimientos deben reflejar prácticas médico veterinarias aceptables y el cumplimiento de las regulaciones aplicables al control de zoonosis. La información que brindan los vendedores sobre la calidad de los animales debe ser suficiente para permitir al veterinario determinar el período de cuarentena, para definir los peligros potenciales para el personal y los animales de las colonias, para determinar si se requiere terapia antes de que los animales sean liberados de la cuarentena. Los roedores podrían no requerir cuarentena, si los datos del vendedor o proveedor son lo suficientemente completos y actuales para definir el estado actual de salud de los animales que se están recibiendo y si también se considera la exposición potencial a patógenos durante su traslado. Cuando esté indicada la cuarentena, los animales de un embarque deben separarse de los animales de otros

embarques (no necesariamente unos de otros), para evitar la transferencia de agentes infecciosos entre grupos.

Se recomienda la separación física de especies para prevenir la transmisión de enfermedades entre ellas y para eliminar la ansiedad y posibles cambios fisiológicos y de conducta debidos a conflictos interespecies. Esta separación generalmente se logra alojando a las diferentes especies en cuartos separados; sin embargo, son alternativas satisfactorias los cubículos, unidades de flujo laminar, jaulas con aire filtrado o ventilación separada y los aisladores. En algunos casos podría ser aceptable alojar diferentes especies en el mismo cuarto, por ejemplo, si dos de ellas tienen un *status* microbiológico similar o son conducta similar. Algunas especies pueden tener infecciones subclínicas o latentes que cuando se transmiten a otra son capaces de causar enfermedad clínica.

Período de adaptación

Sin considerar la duración de la cuarentena, los animales recién llegados deben someterse a un período de adaptación (estabilización) fisiológica, psicológica y nutricional antes de ser utilizados en las diversas experiencias. La duración del período de estabilización dependerá de diversos factores, como el stress al que se haya sometido al animal, que a su vez dependerá de diversos factores, entre ellos la duración del transporte y la edad del animal tipo, así también como el empleo que se les pretende dar. Se ha demostrado la necesidad de un período de estabilización para ratones, ratas, cobayos y cabras y probablemente se requiera también para otras especies (Drozdowicz y otros 1990; Jelinek 1971; Landi y otros 1982; Prasad y otros 1978; Sanhoury y otros 1989; Tuli y otros 1995; Wallace 1976).

Especie	Días requeridos de adaptación
Roedores en general (cobayo, rata, ratón)	5 a 15 días
Conejo	20-30 días
Terneros	3 a 7 días
Cerdos	5 a 20 días
Rumiantes menores (ovinos, caprinos y camélidos)	5 a 20 días
Bovinos adultos	5 a 20 días
Aves	10 a 20 días

En el caso de bovinos jóvenes o adultos que provengan del Campo Experimental de INTA o de algún establecimiento productor externo, los mismos deberán adaptarse, previamente a la entrada a boxes. Este período se lleva a cabo en los corrales, en el Campo Experimental, donde los animales de cada lote comienzan la transición de una dieta exclusivamente fibrosa a una combinación fibra-balanceado, que será la que luego ingerirán durante su estadía en los boxes.

Vigilancia, diagnóstico, y control de enfermedades

Todos los animales deben ser observados por una persona entrenada para reconocer los signos de enfermedades, lesiones o conductas anormales. Como regla, esto debe hacerse una vez al día, pero pueden estar justificadas observaciones más frecuentes, como durante la recuperación post-operatoria o cuando los animales están enfermos o tengan un déficit físico. Se debe aplicar el criterio profesional para asegurar que la frecuencia y carácter de la observación disminuya al mínimo los riesgos para cada uno de los animales.

Es imperativo que se establezcan los métodos adecuados para la vigilancia y diagnóstico de las enfermedades. Las muertes súbitas y los signos de enfermedad, distrés y otras desviaciones de la normalidad en los animales se deben reportar rápidamente, para asegurar que se brinde cuidado médico veterinario adecuado y oportuno. Se deben aislar los animales sanos de aquellos que muestren signos de enfermedades contagiosas en la colonia. Si se sabe o se cree que un cuarto de animales completo ha sido expuesto a agentes infecciosos, el grupo debe mantenerse intacto durante el proceso de diagnóstico, tratamiento y control.

Los métodos de diagnóstico preventivo y terapia deben ser aquellos aceptados en la práctica veterinaria actual. El cuidado médico veterinario se facilita con los servicios del laboratorio de diagnóstico y puede incluir patología clínica, macro y microscópica, hematología, microbiología, química clínica y serología. La elección de la medicación o terapia debe hacerla el veterinario en acuerdo con el investigador. El plan de tratamiento seleccionado debe ser terapéuticamente apropiado y siempre que sea posible no causar variables experimentales indeseables.

Cirugía

Se mejoran los resultados de la cirugía si se presta una apropiada atención a la planificación pre-quirúrgica, entrenamiento del personal, técnicas quirúrgicas y asépticas, bienestar y condición fisiológica de los animales durante todas las fases del protocolo experimental. El impacto individual de estos factores variará de acuerdo con la complejidad de los procedimientos involucrados y las especies animales empleadas. El enfoque multidisciplinario de los proyectos quirúrgicos, en los que brindan apoyo personas con diferentes áreas de pericia a menudo incrementa las posibilidades de un resultado exitoso (Brown y Schofield 1994; Brown y otros 1993).

Es necesario realizar una valoración continua y escrupulosa de los resultados quirúrgicos para asegurar la aplicación de los procedimientos apropiados e instituir las correcciones oportunamente. Puede ser deseable o aún necesaria la modificación de técnicas estándar como en el caso de cirugía en roedores, siempre y cuando no se comprometa el bienestar de los animales. En caso de modificaciones, las evaluaciones de los resultados deben ser aún más rigurosas y podrían incorporar otros criterios, además de los obvios de morbi-mortalidad.

La evaluación prequirúrgica debe incluir la participación de todos los miembros del equipo de cirugía: el cirujano, anestesista, veterinario, técnicos en cirugía, personal de cuidado de los animales e investigador. El plan quirúrgico debe identificar al personal, sus funciones, necesidades de entrenamiento, equipo e insumos requeridos para los procedimientos por realizarse (Cunliffe-Beamer 1993); la localización y características de las instalaciones en las cuales se llevarán a cabo los procedimientos; y la valoración del estado de salud del animal antes de la intervención y la atención post-operatoria (Brown y Schofield 1994). El uso de antibióticos antes de la operación podría estar indicado cuando se vaya a exponer quirúrgicamente una parte no estéril del animal, tal como el tracto gastrointestinal o cuando sea probable que el procedimiento cause inmunosupresión (Klement y otros 1987). Sin embargo, el uso de antibióticos nunca debe considerarse como un reemplazo de los procedimientos asépticos.

Para asegurar que se practique una buena técnica quirúrgica es importante que las personas hayan tenido una capacitación apropiada, esto significa: asepsia, manipulación cuidadosa de los tejidos, mínima disección de tejidos, uso apropiado del instrumental, hemostásis eficaz y uso correcto de los materiales y técnicas de sutura (Chaffee 1974; Wingfield 1979). Las personas que realizan los procedimientos quirúrgicos y quienes las asisten, en situaciones de investigación científica, a menudo tienen un amplio rango de antecedentes educativos y pueden requerir varios tipos y niveles de entrenamiento antes de que puedan participar en los procedimientos quirúrgicos en animales. El **CICUAE** es responsable de decidir si el personal que lleva a cabo los procedimientos quirúrgicos está entrenado y calificado.

En términos generales los procedimientos quirúrgicos se clasifican en mayores y menores y en el caso de la cirugía experimental pueden subdividirse aún más, ya sea que el animal sobreviva (con supervivencia) o no (muerte en inconsciencia). La cirugía mayor con supervivencia penetra y expone las cavidades corporales o produce un deterioro substancial de las funciones físicas o fisiológicas (tales como la laparotomía, toracotomía, craneotomía, reemplazo de articulaciones y amputación de miembros). La cirugía menor con supervivencia no expone cavidades corporales y causa menoscabo físico menor o ninguno (tales como sutura de herida, canulación de vasos periféricos, etc). Los procedimientos menores con frecuencia se realizan bajo condiciones menos rigurosas que los procedimientos mayores, pero también requieren de técnicas e instrumental estériles y de una anestesia adecuada. Aún cuando los procedimientos laparoscópicos a menudo se llevan a cabo en pacientes ambulatorios, si se penetra una cavidad corporal es necesaria una técnica aséptica apropiada.

En la cirugía con muerte en inconsciencia el animal es sacrificado antes de recobrase de la anestesia. Si se realiza cirugía con muerte en inconsciencia podría no ser necesario seguir todas las técnicas descritas en esta sección; sin embargo, por lo menos el área quirúrgica debe ser rasurada, el cirujano debe usar guantes, y el instrumental y área aledaña deben estar limpios.

En situaciones de emergencia, a veces se requiere de corrección quirúrgica inmediata bajo condiciones menos que ideales. Por ejemplo, si un bovino del campo experimental necesita atención quirúrgica, el trasladarlo al quirófano podría significar un riesgo inaceptable o ser

impráctico. Tales situaciones a menudo requieren un cuidado posterior más intenso y pueden presentar un mayor riesgo de complicaciones post-operatorias. Se requiere el criterio profesional del médico veterinario para tomar el curso de acción más apropiado.

La técnica aséptica requiere de la participación y cooperación de todos los que entran al quirófano. La contribución e importancia de cada una de las prácticas varía con el procedimiento. La técnica aséptica comprende la preparación del paciente, tal como la remoción de pelo y la asepsia del sitio de la intervención, la preparación del cirujano, como el uso de ropa quirúrgica descontaminada, cepillado quirúrgico y guantes quirúrgicos estériles; la esterilización del instrumental, insumos y materiales para implantes; y el uso de técnicas operativas que reduzcan la posibilidad de infección.

Las posibilidades de un resultado quirúrgico exitoso se incrementan con una cuidadosa vigilancia quirúrgica y la solución oportuna de problemas. La vigilancia incluye: controlar la profundidad de la anestesia, comprobar la función fisiológica y valorar los signos y condiciones clínicas. El mantenimiento de la temperatura corporal es de particular importancia y reduce al mínimo las alteraciones cardiovasculares y respiratorias causadas por los agentes anestésicos.

Las especies animales influyen en los componentes y en la intensidad del programa quirúrgico. Se ha debatido la relativa susceptibilidad de los roedores a las infecciones quirúrgicas; los datos disponibles sugieren que las infecciones subclínicas pueden causar respuestas fisiológicas y de conducta adversas (Beamer 1972; Bradfield y otros 1992; Cunliffe-Beamer 1990; Waynforth 1980, 1987) que pueden afectar tanto el éxito de la cirugía como los resultados experimentales. Algunas características de la cirugía en roedores de laboratorio comunes, tales como, sitios de incisión mas pequeños, menos personal en el equipo quirúrgico, manipulación de muchos animales en una ocasión, y procedimientos mas breves, que son opuestos a la cirugía en especies mayores, pueden hacer necesarias o deseables modificaciones a las técnicas asépticas estándar (Brown 1994; Cunliffe-Beamer 1993).

La planificación prequirúrgica debe especificar los requerimientos de vigilancia y cuidado post-quirúrgico y el mantenimiento de registros, incluyendo el personal que llevará a cabo estas tareas. El investigador y el veterinario comparten la responsabilidad de asegurar un cuidado postquirúrgico apropiado. La observación del animal y la intervención, en caso necesario, durante la recuperación de la anestesia y de la cirugía son componentes importantes del cuidado postquirúrgico. Durante el período de recuperación de la anestesia el animal debe estar en un espacio limpio y seco, en donde el personal capacitado lo pueda observar frecuentemente. La intensidad de la vigilancia necesaria, varía según la especie y el procedimiento y puede ser mayor durante el período inmediato a la recuperación de la anestesia, que durante la recuperación postoperatoria.

Se debe prestar una atención particular a la termorregulación y a las funciones respiratorias y cardiovasculares, al dolor postoperatorio y a la incomodidad durante la recuperación de la anestesia. Se pueden justificar cuidados adicionales, incluyendo la administración parenteral de fluidos para mantener el balance hídrico y electrolítico, de analgésicos y otros

fármacos; la atención de las heridas quirúrgicas; y el mantenimiento de registros médicos apropiados.

Después de la recuperación de la anestesia, a menudo la vigilancia es menos intensa, pero debe incluir la comprobación de las funciones biológicas básicas de ingestión y eliminación y los signos de dolor postoperatorio, la detección de infecciones postquirúrgicas, la observación de la herida quirúrgica, el vendaje adecuado y la remoción oportuna de las suturas, grapas o pinzas.

Dolor, analgesia y anestesia

La prevención y alivio del dolor, asociado a los procedimientos de los protocolos de experimentación son componentes esenciales de la atención médico veterinaria. El dolor es una experiencia compleja que típicamente resulta de un estímulo que daña o tiene el potencial de dañar los tejidos. La capacidad de sentir y de responder al dolor está ampliamente difundida en el reino animal. Un estímulo doloroso evoca una acción evasiva y de retiro. **El uso apropiado de anestésicos y analgésicos en los animales de experimentación es un imperativo científico y ético.**

Para aliviar el dolor de los animales es fundamental la habilidad de reconocer sus signos clínicos específicos para cada especie.

Las respuestas al dolor varían según la especie animal, por lo tanto, también son diferentes los criterios de valoración del dolor entre ellas. Se usan como indicadores algunas manifestaciones de dolor o diestrés que son especie-específicas, por ejemplo, vocalización, depresión y otros cambios de conducta, postura o apariencia anormal e inmovilidad. Es, por lo tanto, esencial que el personal que cuida y utiliza a los animales esté muy familiarizado con los indicadores de conducta, fisiológicos y bioquímicos de bienestar, específicos de la especie. En términos generales, se debe asumir que los procedimientos que causan dolor en los seres humanos también causan dolor en los animales, a menos que se sepa o establezca lo contrario.

La selección del anestésico y analgésico idóneos debe reflejar el juicio profesional con el que mejor se satisfagan los requerimientos clínicos y humanitarios, sin comprometer los aspectos científicos del protocolo de investigación. La administración preoperatoria o transoperatoria de analgésicos puede mejorar la analgesia post-quirúrgica. La selección depende de muchos factores, tales como: especie y edad del animal, tipo y grado de dolor, posibles efectos del agente particular sobre el órgano o sistema específico, duración de la intervención quirúrgica y seguridad del fármaco para el animal, particularmente si el procedimiento quirúrgico o experimental induce un deterioro fisiológico. Aparatos, tales como nebulizadores y respiradores, aumentan la seguridad y las opciones de agentes inhalables que se puedan usar en los roedores y otras especies pequeñas.

Es imperativo que el uso de los mismos sea evaluado cuidadosamente por el **Comité** para asegurar el bienestar del animal.

Eliminación de los Desechos

Los desechos convencionales, biológicos y peligrosos deben ser removidos y eliminados en forma regular y segura (NSC 1979). Existen varias opciones para una eficaz eliminación de los desechos. Se puede garantizar la seguridad y el cumplimiento de las regulaciones a través de la firma de contratos con empresas especializadas y autorizadas. La incineración de los desechos en el lugar donde se originan debe cumplir con las regulaciones nacionales, estatales y municipales.

Debe haber tachos de basura en número suficiente y correctamente identificados, distribuidos estratégicamente en todas las casas de los animales. Los contenedores de desechos deben ser a prueba de fugas y estar equipados con tapas que cierren herméticamente. Es una buena práctica usar bolsas interiores en los contenedores de basura y además lavarlos con regularidad. Debe existir un espacio dedicado al almacenamiento transitorio de desperdicios que se pueda mantener libre de insectos y otras plagas. En caso de almacenar en frío el material antes de su eliminación, se debe usar un refrigerador, congelador o cuarto frío exclusivo para este fin y rotularlo correctamente.

Los desechos peligrosos deben hacerse seguros antes de ser removidos de las instalaciones mediante la esterilización, el aislamiento u otro medio apropiado (US EPA 1986). Los desechos radioactivos deben mantenerse en recipientes apropiadamente identificados y su eliminación debe estar estrechamente coordinada con los especialistas de la seguridad radiológica, de acuerdo a las regulaciones federales y estatales. El cumplimiento de las regulaciones relativas al uso y disposición de los agentes peligrosos es responsabilidad de la institución.

Los cadáveres de animales infectados pueden ser incinerados en el sitio de origen o bien acopiados por un contratista autorizado. Los procedimientos institucionales de empaque, etiquetado, traslado y almacenamiento de estos desechos deben integrarse a las políticas de salud y seguridad ocupacional.

Los desechos peligrosos que sean tóxicos, cancerígenos, inflamables, corrosivos, o de alguna otra manera inestables, deben colocarse en recipientes identificados correctamente y eliminarse conforme a la recomendación del especialista en seguridad y salud ocupacional. Son esenciales los programas para prevenir, controlar o eliminar la presencia o la infestación de plagas. En el caso de los animales alojados al aire libre se deben tomar las previsiones oportunas para eliminar o reducir al mínimo los riesgos relacionados con las plagas y con los depredadores. Los pesticidas pueden inducir efectos tóxicos en los animales experimentales e interferir con los resultados de la investigación y por lo tanto su uso en estas áreas debe limitarse a lo indispensable. Antes de usar pesticidas, se debe consultar con los investigadores cuyos animales puedan estar expuestos a ellos. El uso de pesticidas debe registrarse y coordinarse con el personal a cargo del cuidado de los animales y debe cumplir con las regulaciones nacionales, estatales y locales. Siempre que sea posible se deben emplear medios no-tóxicos para el control de plagas, tales como, los reguladores del crecimiento de insectos, y sustancias no-tóxicas (ej., gel amorfo de sílice). Si se utilizan trampas, los métodos deben ser humanitarios; las trampas que capturan a los animales vivos requieren una observación frecuente y el sacrificio humanitario, inmediatamente después de la captura.

2.6. EMERGENCIAS, FINES DE SEMANA Y DIAS FESTIVOS

Los animales deben ser atendidos por personal calificado todos los días, incluyendo fines de semana y días festivos, para salvaguardar su bienestar y para satisfacer las exigencias de la investigación. Debe haber atención médico veterinario de emergencia en horas no laborables, fines de semana y días de asueto.

En el caso de una emergencia el personal institucional de seguridad, bomberos o policías autorizados deben tener la posibilidad de llegar a las personas responsables de los animales, esto se puede mejorar significativamente anunciando en carteles los procedimientos de emergencia, nombre y números telefónicos en los bioterios y también en los departamentos de seguridad o centrales telefónicas. Los procedimientos de emergencia para manejar instalaciones y operaciones especiales debe anunciarse visiblemente.

Una parte del plan general de seguridad de la casa de los animales debe contemplar un plan en caso de desastres, que considere tanto al personal como a los animales. El director del bioterio o el veterinario responsable de los animales deben ser miembros del comité institucional de seguridad. Esta persona debe ser un "funcionario responsable" de la institución y debe participar en la respuesta en caso de catástrofe (Casper 1991).

2.7. MANEJO DE LAS POBLACIONES

Identificación y Registro

Todos los animales pertenecientes a especies con sistemas de identificación ya regulados deberán estar identificados conforme la normativa vigente. Los medios de identificación de los animales incluyen las tarjetas con información escrita o codificada en barras, colocadas en jaulas, pesebres, corrales, estantes y cuartos; collares, bandas, placas y aretes; manchas de colores, perforaciones o muescas del pabellón auricular; tatuajes; transmisores subcutáneos y herraje.

Cuando el sistema de identificación utilizado pueda producir dolor al animal, se le proporcionará la anestesia o analgesia adecuada. Las tarjetas de identificación deben contener: especie, raza, cepa, origen, sexo y fecha de nacimiento del animal, nombre y localización del investigador responsable, número de protocolo y observaciones. Los registros clínicos individuales de los animales también pueden ser valiosos, especialmente cuando se trata de perros, gatos, primates no-humanos y animales de granja. Deben incluir la información clínica y diagnóstica pertinente, fecha de las inoculaciones, historia de las intervenciones quirúrgicas y del cuidado postoperatorio e información sobre el uso experimental. La información demográfica básica y las historias clínicas aumentan el valor del animal en particular, tanto para la crianza como para la experimentación y deben estar fácilmente accesibles al investigador, personal veterinario, y personal al cuidado de los animales. Los registros que contienen información descriptiva básica son esenciales para el manejo de las colonias de las especies grandes y longevas y deben mantenerse individualmente para cada animal (Dyke 1993; NRC 1979 a). Estos registros a menudo contienen las especies, el identificador, identidad de los progenitores, sexo, fecha de nacimiento o adquisición, origen, fecha de salida y disposición final. Estos registros de los animales son esenciales para el manejo genético y la evaluación histórica de las colonias. Cuando los animales son transferidos entre instituciones se debe brindar la información de los registros que sea relevante.

3. PROCEDIMIENTOS

3.1.MUESTREO

Siempre que se utilicen animales en los laboratorios, hay que considerar como otro objetivo, junto con la necesidad de obtener resultados experimentales, minimizar cualquier dolor o angustia que los animales puedan sufrir.

En los últimos años, se ha puesto más atención en la necesidad de reconocer y controlar los efectos negativos de los procedimientos científicos sobre los animales. De la misma manera se ha prestado atención a la necesidad de mejorar y enriquecer el medio ambiente en el cual los animales de laboratorio pasan su vida (enriquecimiento ambiental). Todas las mejoras que se realicen, favorecen la calidad de la investigación científica, ya que el sufrimiento y el miedo en los animales puede traducirse en cambios fisiológicos que son susceptibles de añadir otra variable a los resultados experimentales.

El objetivo de esta guía es ofrecer una ayuda a las personas encargadas de extraer muestras de todo tipo, a partir de los animales experimentales, para que puedan hacerlo de la manera mas humana y eficiente posible, reduciendo al mínimo todo dolor, sufrimiento y trastorno que puedan sufrir los animales.

El stress durante las maniobras de muestreo debe reducirse al mínimo, en beneficio de una buena ciencia y la mejora del bienestar animal.

Ambiente del muestreo

El lugar que se utilizará para realizar los muestreos dependerá de la especie animal, ya que los roedores y aves pueden sangrarse en una sala apartada, dentro del bioterio o animalario, mientras que en los animales de mayor tamaño, el mismo puede realizarse en los boxes, donde se encuentran alojados o bien en las mangas que se encuentran en el campo experimental, para los animales del rodeo general.

Durante toda la maniobra, el ambiente de trabajo deberá minimizar todos los ruidos molestos que puedan perturbar tanto a los animales como a los encargados de la tomas de muestras.

Está terminantemente comer, beber y fumar durante el muestreo. No se podrá gritar ni realizar movimientos violentos hacia los animales.

Para el muestreo sobre los animales pequeños (roedores y aves) deberá contarse con una caja extra para ir colocando a los animales muestreados y observar cualquier cambio de comportamiento que merite la atención de un veterinario especializado.

En el caso de animales de mayor tamaño (rumiantes, equinos y porcinos), éste Comité no aprueba bajo ninguna circunstancia el uso de picana eléctrica para ingresar a los animales al área de muestreo.

3.1.1. EXTRACCION DE SANGRE

Los científicos deben ser concientes que el proceso puede ser innecesariamente estresante para el animal, por el trato, el tipo de anestesia o la incomodidad que se asocia con la restricción de la técnica. Se deben considerar que los cambios fisiológicos que resultan de la manipulación de los animales (stress) pueden invalidar los resultados (Ajika et al, 1972;

O'Neil y Kaufmann, 1990; Sarlis, 1991), por lo tanto deberían verificarse los métodos de muestreo utilizados, en busca de cualquier cambio asociado.

La toma de muestra se puede obtener a través de un acceso venoso, arterial o punción cardíaca.

Los pasos que se describen a continuación se describen para la extracción de sangre venosa, pero deben adaptarse a cualquier tipo de sangrado, excepto indicaciones particulares.

Preparación del lugar

Es importante mantener una asepsia completa durante todo el muestreo, de forma que todo pelo o resto de piel superficial que este por encima de la zona de punción sea retirado.

El método para eliminar el pelo dependerá de la especie animal y de la localización de la zona de muestreo. Puede realizarse con tijeras curvas o esquiladoras.

La zona rasurada debe limpiarse con agua templada y luego deberá desinfectarse con una solución de yodo povidona o alcohol.

Sujeción del animal

El nivel correcto de sujeción, es el que permite tomar una muestra satisfactoria al primer intento sin causar pánico innecesario en el animal, en cuyo caso los animales cercanos pueden alarmarse, lo que llevaría a complicaciones científicas como de bienestar.

La sujeción deberá ser llevada a cabo suavemente por un operador experimentado que, siempre que sea posible, esté familiarizado con el animal. Habitualmente en los animales grandes, la punción puede realizarse sujetando físicamente a los animales y no se requiere anestesia.

En pequeños animales, puede utilizarse un anestésico de acción corta para manipularlos con comodidad. Recordar que algunos agentes sedantes/anestésicos pueden alterar los parámetros bioquímicos y hematológicos. ANEXO

Lugar de extracción

Los lugares recomendados para la extracción de sangre en las diferentes especies se muestran en la tabla 5 y 6.

En los animales de pequeño tamaño (roedores y aves), se exige un conocimiento previo de la anatomía del animal en cuestión, con entrenamiento sobre animales muertos.

Tanto la vena como la arteria deben ser localizadas claramente antes de efectuar la punción. Cortar el pelo, rasurar la zona o utilizar un agente humidificante (alcohol o detergente) pueden ayudar.

En animales de mayor tamaño (rumiantes, equinos, porcinos), se puede ocluir el vaso mediante leve presión sobre una superficie ósea por encima del lugar de punción, cuando ésta sea caudal (extremo de la cola) al corazón, y por debajo del lugar de punción cuando sea craneal (cabeza) para restringir la normal circulación de la sangre y permitir una distensión del vaso, mejorando la visualización.

Volumen

El volumen de sangre extraído y la frecuencia de los muestreos se basarán en el propósito del procedimiento científico y el volumen total de sangre del animal (especie animal, edad y estado fisiológico-nutricional). ANEXO

Instrumental

En todos los casos debe utilizarse material descartable y estéril. La piel y el vaso deben ser perforados con un solo movimiento, el cual debe ser sólido y firme, con el bisel apuntando al operador.

El calibre de las agujas dependerá del tamaño del animal, del volumen de sangre requerido y del procedimiento al que será sometida la muestra.

Nuestra recomendación es utilizar el mayor calibre posible para asegurar una extracción de sangre rápida sin colapsar la vena, y limitando la formación de hematomas.

Las venas se colapsan si la muestra se toma muy deprisa, por lo tanto debe asegurarse un ritmo adecuado

Retirada de la aguja

Una vez retirada la aguja se debe aplicar una presión continua, inmediatamente después, en el lugar de la punción durante al menos 30-60 segundos. Se debe observar la zona de punción, 30 segundos más, para verificar la ausencia de sangrado. En el caso de roedores, deben colocarse en una caja auxiliar para realizar un seguimiento y luego una vez que se comprueba que el animal está en perfectas condiciones, se lo colocará en su jaula. Estas medidas tienden a eliminar el canibalismo por otros animales y prever la muerte del animal por traumas sufridos durante la manipulación y sangrado.

Efectos adversos

Algunos de los problemas que pueden surgir luego de la punción son: hemorragias, hematomas, trombosis y stress por una manipulación inadecuada.

Otros problemas incluyen la infección del lugar de entrada de la aguja y lesión en nervios y órganos por excesivo movimiento de los animales durante las maniobras. Las embolias son de presentación rara

Métodos de punción venosa no recomendados

Muchos métodos tradicionales de sangrado no pueden aceptarse debido a su crudeza y porque existen en este momento otros que causan menos dolor al animal y proporcionan una muestra de sangre más aceptable.

Hoy en día pueden obtenerse agujas del tamaño correcto, de tal manera que no es necesario recurrir a la laceración de una vena a lo largo de su recorrido. Los métodos que impliquen el corte de venas de la oreja, hacer cortes repetidos en la cola (o vena de la cola) y cortar las garras/uñas, deben evitarse. En las ratas, los cortes repetidos de la cola pueden producir granulomas, lo que da lugar a la formación de una masa de tejido en la extremidad de la cola.

Las amputaciones repetidas de la cola, especialmente en ratas, puede eliminar la capacidad natural del animal de controlar la temperatura corporal y el equilibrio.

Esta práctica es inaceptable por este Comité, como método de muestreo repetido.

No se recomienda utilizar la vena pública o del pene o de la lengua, ya que presentan efectos adversos como trombosis, que llevan a un bloqueo temporal de la uretra o hinchazón de la lengua y causarán una extrema molestia y un intenso dolor.

ANEXO Sangrado retro-orbital

Esta técnica implica pinchar el seno venoso por detrás del globo del ojo y se conoce de diferentes maneras: sangrado retro-orbital, peri-orbital, orbital posterior y sangrado del plexo venoso orbital. Con personal altamente capacitado, este método de sangrado puede ser útil para obtener buenas muestras de animales sin cola (hámster) o en animales que requieran volúmenes mayores de lo que se pueden obtener de la vena de la cola (ratón). Sin embargo esta técnica tiene severas consecuencias para el animal y por lo tanto, **este Comité no recomienda el uso de éste método con recuperación del animal, sino solamente como procedimiento terminal bajo anestesia.**

Sangrado en roedores

El animal deberá ser anestesiado y sujetado suavemente por el cuello a la altura de la nuca, en una superficie sólida, de forma que sobresalgan los ojos. Esto puede ayudar a ocluir el retorno venoso de la cabeza y el cuello. Deberá cuidarse de no impedir la respiración. El seno orbital se penetra con una micropipeta, pipeta Pasteur o tubo microcapilar (tamaño de 100µl). Se le empuja a través de la conjuntiva, lateralmente (parte externa), dorsalmente (encima) o medialmente (parte interna) hasta la pared posterior de la órbita, donde se pincha el seno venoso y se llena de sangre. Al retirara la pipeta o el tubo, la sangre exuda desde el canto (comisura) donde puede ser recogida. Nota: la muestra puede contaminarse con residuos de la superficie.

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

Al emplear esta técnica se debe tener cuidado de no dañar la córnea, mientras se presiona el globo para limitar la hemorragia post-sangrado.

En un ratón se puede recoger de 100 a 200µl de sangre.

Algunos autores indican que el daño se minimiza al utilizar el canto externo (lateral) del ojo. En la rata, se ha sugerido que la conjuntiva sea penetrada en la parte dorsal o superior del ojo, ya que en esta especie hay un plexo dorsal venoso más que un seno retro-orbital (Timm, 1989)

Esta técnica presenta muchos efectos adversos. Puede aparecer una hemorragia después de la recogida de sangre, con el resultado de un hematoma retro-orbital y presión excesiva del ojo. La presión es dolorosa para el animal y el daño al nervio óptico y otras estructuras intra-orbitales puede llevar a deficiencias en la visión e incluso cegueras. La presión de un hematoma puede impedir al animal cerrar el ojo, pudiendo ocasionar una ulceración y rotura corneal.

Otros efectos adversos pueden ser el daño neural al atravesar los huesos de la órbita con la micropipeta, la penetración del propio globo, con pérdida de humor vítreo y la infección que provoca la inflamación y posterior degeneración del ojo. La queratitis (inflamación de córnea) con formación de pannus proliferación de vasos sanguíneos) puede ser un error del operador al frotar la córnea mientras presiona el globo para limitar la hemorragia. La secuela frecuente de esta técnica es la microftalmia (ojo encogido) que es inoperante y el dolor que el animal haya sufrido durante todo el proceso.

3.1.2. CANULACIÓN

Esta técnica se utiliza para disminuir el stress y el daño al animal que debe ser sangrado repetidamente. Las cánulas pueden implantarse (canulación) y ser utilizadas para evitar

entradas repetidas de agujas en un mismo lugar o sustituyendo muestreos simples en varias zonas.

La habilidad quirúrgica es fundamental para colocar y fijar la cánula (Gellai y Valtin, 1979; Desjardin, 1986; Dennis et al, 1986; Van Dongen et al, 1990).

Tanto en las canulaciones de larga o corta duración, será necesario sujetar al animal para impedir que se retire la misma. Se puede colocar un vendaje para proteger la cánula. En los animales más pequeños, como en las ratas, se puede sujetar con algún tipo de arnés, previo acostumbamiento del animal a llevar el mismo.

Las cánulas pueden mantenerse en perros, cerdos, ratas y conejos sin utilizar arneses ni vendajes fijos.

Los siguientes métodos pueden causar molestias en el animal y por lo tanto se justifica la administración pre-operatoria de analgésicos y cuidados post-operatorios serios y el control durante todo el período de canulación.

Canulación de corta duración (menos de un día)

Esta técnica no tiene éxito en los ratones, pero sí en otras especies.

Se puede utilizar un butterfly o abboath. Este último es preferible por que al no tener punta de metal que dañe los vasos, las laceraciones endoteliales, perforaciones y trombos son menos susceptibles de aparecer. Ambos dispositivos requieren una fijación externa con pegamento o cinta. Siempre que sea posible, las cánulas deben colocarse en el sentido del flujo sanguíneo.

Canulación de larga duración (2 días o más)

Unos de los mayores problemas con la canulación de larga duración es que los bloqueos debidos a trombos son más susceptibles de aparición. Se pueden utilizar los mismos materiales que en el punto anterior o goma de silicona (silastic) y las cánulas de Tygon.

Equipamiento y material

Habitualmente se utilizan cánulas de polipropileno, polietileno, nylon y goma, pero la goma de silicona (silastic) y las cánulas de Tygon parecen ser mas biocompatibles.

El problema con la cánula de silicona es que es demasiado flexible y se retuerce fácilmente. También es común que se obstruya el lumen al sobre-apretar las ligaduras de anclaje.

Se deberá dejar una solución salina con heparina (por ejemplo 30UI/ml) o algún otro anticoagulante en la cánula o aguja entre muestreos, ya que es común la formación de coágulos que imposibilitan la toma de muestras.

La cánula puede terminarse en un punto de goma de silicona que puede ir fijo a la extremidad de la cánula y puede pincharse varias veces. Este tapón puede cubrirse con una espiga plástica o de metal para evitar contaminaciones. Cada vez que se requiera pinchar la extremidad de la cánula, la misma deberá desinfectarse con alcohol 70°.

Fijación de la cánula

Hay varios métodos para fijar la cánula a la piel. La misma puede simplemente salir a través de la piel y ser fijada con cinta o un vendaje alrededor del cuello del animal (si es una cánula yugular). También pueden ocultarse en el cuello mediante suturas superficiales

de piel que sujeten la cánula en una cavidad entre 2 pliegues de piel. Es importante tener en cuenta que los puntos o suturas pueden causar malestar en el animal. Este lugar deberá observarse regularmente y limpiarse cuidadosamente para evitar las infecciones. Cuanto más pequeño sea el lugar de salida, menos irritación provocará en el animal.

Toma de muestra

Para tomar una muestra de sangre, primero se debe retirar la solución anticoagulante que se encuentra en la cánula, extrayéndola con una jeringa. Luego se toma la muestra. Los anticoagulantes apropiados incluyen solución salina de heparina (10-1000IU/ml) o citrato sódico (0.05% p/v). para evitar la obstrucción de la cánula, la misma deberá limpiarse con solución salina al menos dos veces por semana. En todo momento se deben seguir precauciones asépticas para evitar infecciones.

Efectos adversos

Bloqueos: los trombos se pueden formar en la extremidad de la cánula, bloqueándola totalmente o formando una especie de válvula que hace imposible la extracción. Esto se evita colocando la solución anticoagulante. La cánula también se puede bloquear si su punta apoya contra la pared de la vena. Para corregir esto hay que posicionar al animal o recolocar la punta de la cánula.

Infecciones: esta puede ser evitada mediante el uso de equipo y soluciones estériles y utilización de técnicas asépticas.

Retirada accidental: la cánula puede salirse del animal por movimientos propios o por sus compañeros.

3.1.3. SANGRADO ARTERIAL

La razón principal para el uso del sangrado arterial es la volumen de sangre que puede obtenerse de manera rápida y fácil. Generalmente se usa la arteria carótida. En conejos puede utilizarse la arteria central de la oreja y en pequeños mamíferos, como ratas, se puede usar la arteria femoral.

Punción con aguja (especialmente en conejos)

Cuando se sangran conejos es mejor sujetarlos con una toalla para detener cualquier movimiento inadvertido que podría dañar la arteria que se está pinchando. La preparación y desinfección del área (en este caso, la oreja) se realiza de manera similar al sangrado venoso.

Luego de tomar la muestra de sangre, se debe comprimir la arteria con un algodón durante al menos 2 minutos.

El fracaso en impedir el sangrado continuo tendrá como resultado un gran hematoma sobre la arteria lo que puede provocar un daño permanente en la oreja.

Canulación

Las diferencias entre la canulación venoso y arterial son la colocación y las consecuencias del desprendimiento de trombos. Tener en cuenta la gran presión sanguínea arterial al

introducir una cánula, ya que cualquier abertura que no esté bien cerrada en una arteria puede sangrar profusamente. Siempre que sea posible, las cánulas deben colocarse en el sentido del flujo sanguíneo.

Un trombo liberado en la circulación arterial puede bloquear la circulación en un órgano, al alojarse en la arteria que lo irriga. Ejemplos de estos casos son bloqueos de la arteria renal, arterias ovárica y testicular, arteria mesentérica. Los trombos femorales son muy dolorosos y producen cojeras temporarias, hasta que se establece una circulación colateral o se reabsorbe el trombo. Se recomienda la administración de analgésicos o la terminación del experimento.

3.1.4. PUNCIÓN CARDÍACA

La punción cardíaca siempre deberá llevarse a cabo bajo anestesia general en todos los animales de laboratorio.

Normalmente se pincha el ventrículo izquierdo con el animal sobre el lado derecho. Otro método recomendado es con el animal de espaldas e introducir una aguja larga justo debajo del esternón hasta el corazón.

Este método puede utilizarse para sangrías a blanco y para obtener muestras únicas de sangre en cobayos y hámsters.

Cuando se aplica este método con fines terminales, debe asegurarse la muerte después de la exanguinación administrando una sobredosis de anestésico o practicando una incisión en el corazón (VER METODOS DE EUTANASIA).

La punción cardíaca repetida deberá justificarse en el proyecto de cada investigador, debido a los potenciales efectos adversos y no se puede aplicar en cualquier especie.

Para estos casos, se recomienda las cánulas de larga duración.

Materiales

Las agujas para realizar la punción cardíaca deberán ser largas para penetrar el ventrículo. Para un solo sangrado, con recuperación, en animales pequeños, una aguja de 25 mm x 21-23 G será suficiente. El calibre y largo de la aguja deberá ir aumentando en relación al tamaño el animal.

Toma de muestra

Se requiere anestesia general. El corazón normalmente se sitúa en el tórax en la punta del codo y puede sentirse o escucharse con un estetoscopio.

Si el sangrado es con recuperación del animal, la preparación y desinfección del área se realiza de manera similar a los otros sangrados (VER PUNTO 3.1.1 DE ESTA GUÍA).

La aguja deberá ser lo suficientemente larga para penetrar el ventrículo y se debe mantener un vacío en la jeringa durante la entrada de la aguja. Dirigir la aguja hacia donde se escuche el ruido mas fuerte con el estetoscopio o el área donde se sienta el mayor impulso cardíaco.

La aguja deberá fijarse en ese punto con los dedos para que no sea retirada por movimientos accidentales.

Cuidados posteriores del animal y efectos adversos potenciales

Como cualquier animal que se encuentre en proceso de recuperación de una anestesia, debe ser separado de los demás animales hasta que esté completamente consciente. Debe ser mantenido caliente, cuidadosamente vigilado y sacrificado si padece un malestar que no se puede aliviar.

En las punciones cardíacas repetidas hay riesgo de sangrado posterior en el pericardio que conduce al paro cardíaco y muerte.

Pueden producirse fibrilaciones ventriculares durante el muestreo pero una premedicación con atropina ayudará a evitar esta complicación.

Tabla 5. Ventajas y Desventajas de los sitios de extracción de sangre

Ruta/ Vena	Anestesia General	Daño Tisular	Sangrado repetidos	Volumen	Especies
Jugular	no	Bajo	Si	+++	rata, perro, conejo, bovinos
Cefálica	no	Bajo	Si	+++	perro
Safena/tarsal lateral	no	Bajo	Si	++(+)	Ratón/rata, perro
Marginal de la oreja	no (local)	Bajo	Si	++ +	Conejo, mini-cerdo
Sub-lingual	si	Bajo	Si	+++	rata
Cola lateral	no	Bajo	Si	++(+) +	rata ratón
Arteria central de la oreja	no (local)	Bajo	Si	+++	conejo
Vena cava craneal	no	Bajo	Si	+++	Mini-cerdo
Amputación de la cola (<1 to 3mm)	si	moderado	limitado	+	Ratón/rata
Retro-orbital	si	Moderado/alto	Si	+++	Ratón/rata
Punción cardíaca (1)	si	moderado	No	+++	Ratón/rata, conejo

(1) solo como procedimiento terminal

Tabla 6. Sitios recomendados para muestreos sanguíneos repetidos

Especie	Sitio recomendado
Bovinos	Vena de la cola, yugular
Ratón	Safena, lateral de la cola
Rata	Safena, lateral de la cola, sub-lingual
Conejo	Marginal de la oreja, arteria central de la oreja, jugular
Perro	Cefálica, jugular, safena
Mini-cerdo	Vena cava craneal, retro-orbital

3.1.5. VOLUMEN DE SANGRE A EXTRAER

La extracción del 10% de volumen sanguíneo, iniciará los mecanismos colinérgicos; entre un 15 y 20% del volumen, reducirá el gasto cardíaco y la presión sanguínea. Si se extrae un 30-40% se puede inducir un shock hemorrágico y una pérdida de un 40% puede producir una mortalidad del 50% en ratas. (McGuill y Rowan, 1989) Hasta un 10% del volumen de sangre circulante puede ser extraída en una sola ocasión de animales normalmente sanos y bien nutridos con efectos adversos mínimos. Este volumen puede repetirse después de 3-4 semanas.

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

Tabla 7. Volumen de sangre circulatoria en Animales

Especie	Volumen de Sangre (ml/kg)¹
Bovinos	60
Pollos	60
Cabra	70
Cobayos	67-92
Hámster	78
Caballos	75
Ratón	78-80
Cerdos	65

Conejos	44-70
Ratas	50-70
Ovejas	60

¹ Teniendo en cuenta que se trata de un animal maduro, sano y con un plan de nutrición adecuado.

Tener en cuenta que el porcentaje de sangre circulante será algo mas bajo (-15%) en animales obesos y viejos.

Tabla 8. Volúmenes límites y período de recuperación

Muestreo simple (por ej. estudio de toxicidad)		Muestreo múltiple (por ej. estudio toxico-cinético)	
% volumen circulatorio extraído	Período de recuperación	% volumen circulatorio extraído en 24 h	Período de recuperación
7.5%	1 semana	7.5%	1 semanas
10%	2 semanas	10-15%	2 semanas
15%	4 semanas	20%	3 semanas

La tabla 9 indica el volumen total de sangre y máximo volumen de sangre que puede extraerse sin provocar disturbios en la fisiología normal del animal.

Tabla 9. Volumen total de sangre y máximo volumen de sangre que puede extraerse

Especie (Peso)	Volumen de sangre (ml)	7.5 % (ml)	10 % (ml)	15 % (ml)	20 % (ml)
Ratón (25 g)	1.8	0.1	0.2	0.3	0.4
Rata (250 g)	16	1.2	1.6	2.4	3.2
Conejo (4 kg)	224	17	22	34	45
Perro (10 kg)	850	64	85	127	170
Mini cerdo (15 kg)	975	73	98	146	195

Volúmenes mas pequeños, pero extraídos con demasiada frecuencia, tambien provocarán anemia. Si se extrae mucha sangre rápidamente o demasiado seguido, sin reponerla, el animal puede entrar en shock hipovolémico de corta duración y a largo plazo sufrir anemia.

Por lo tanto es fundamental reconocer los signos y síntomas de shock y de anemia, para poder tomar las medidas adecuadas.

3.1.6. SIGNOS DE SHOCK HIPOVOLÉMICO Y DE ANEMIA

El shock hipovolémico se manifiesta por un pulso rápido y débil, membranas mucosas secas y pálidas, piel y extremidades frías, intranquilidad, hiperventilación y una temperatura corporal anormal.

Ante estos signos se debe consultar al Veterinario a cargo de los animales del proyecto.

En aquellos animales a los que se les ha extraído mas del 10% del volumen sanguíneo circulante, la reposición del mismo volumen de solución salina normal templada (30-35°C), constituye un buen procedimiento.

Los signos de anemia incluyen la palidez de las membranas mucosas de la conjuntiva o del interior de la boca, lengua, encías, orejas, almohadillas plantares, intolerancia al ejercicio y ritmo respiratorio incrementado durante el reposo. El valor del hematocrito, el nivel de hemoglobina, el recuento de hematíes y de reticulocitos pueden ser controlados mediante una serie de sangrados cuando haya preocupación por el desarrollo de anemia.

3.1.7. MUESTRAS DE MATERIA FECAL

Las mismas deberán tomarse con extremo cuidado, minimizando los daños en la mucosa anal. El animal deberá mantenerse firmemente, para disminuir los riesgos de lesiones en los operadores.

En el caso de tomarse muestras de materia fecal en terneros menores de tres meses de edad, deberá utilizarse un dedo (generalmente el dedo índice) enguantando y untado en vaselina líquida. En caso de que el animal sea de menor tamaño (corderos, lechones) deberá utilizarse un hisopo estéril.

3.1.8. HISOPADOS

Usar hisopos estériles o tampones para tomar muestra de secreciones tanto nasales, oculares, genitales.

Aislar y proteger, lo más rápidamente posible la muestra una vez tomada.

Usar guantes limpios que deben cambiarse con frecuencia.

Evitar hablar o estornudar sobre las muestras. Usar mascarilla.

Según el tipo de muestra y agente infeccioso usar bata u otro tipo de ropa protectora.

Utilizar material desechable, siempre que sea posible.

Usar como medio de transporte un medio con concentración 5x de antibióticos y fungisona.

No añadir conservantes a las muestras.

Eliminar todo el material desechable empleado en la recogida de muestras.

3.2. ADMINISTRACIÓN DE SUSTANCIAS

La industria farmacéutica ha investigado las dosis compatibles con el bienestar animal y validación de las investigaciones.

Tabla 10. Ruta de aplicación y volumen

Ruta de aplicación y Volumen (ml/kg excepto *ml/sitio)						
	Oral	SC	IP	IM	EV bolo	EV (inoc. lenta)
Ratón	10 (50)	10 (40)	20 (80)	0.05* (0.1)*	5	(25)
Rata	10 (40)	5 (10)	10 (20)	0.1* (0.2)*	5	(20)
Conejo	10 (15)	1 (2)	5 (20)	0.25 (0.5)	2	(10)
Perro	5 (15)	1 (2)	1 (20)	0.25 (0.5)	2.5	(5)
Mini-cerdo	10 (15)	1 (2)	1 (20)	0.25 (0.5)	2.5	(5)

Entre paréntesis se indica el volumen máximo que se puede administrar de acuerdo a la ruta elegida.

No se puede utilizar la vía IM en mas de 2 lugares por día y la inoculación SC debe estar limitada a 2-3 sitios por día.

Vía oral (PO)

Hay ocasiones que para utilizar esta vía se debe realizar un ayuno. El ayuno debe estar claramente justificado en el proyecto.

Está demostrado que grandes volúmenes de líquido (40ml/kg) pueden sobrepasar la capacidad del estómago y pasar directamente a intestino delgado (Hejgaard et al 1999). También puede haber reflujo del líquido al esófago.

Vía Subcutánea (SC)

Esta vía se utilice frecuentemente y la tasa de absorción depende de la formulación.

Vía Intraperitoneal (IP)

Esta vía presenta como principales desventajas el riesgo de inoculación en tracto intestinal y la presencia de materiales irritantes que pueden llevar a una peritonitis.

La absorción de la droga desde la cavidad peritoneal depende de las propiedades de la misma y del adyuvante y se absorbe tanto por vía sistémica como portal.

Vía Intramuscular (IM)

Las inyecciones IM pueden ser dolorosas, porque las fibras musculares se tensionan por el material inyectado. Se debe elegir el sitio correcto para minimizar la posibilidad de daños nerviosos. Los sitios se deben rotar. Para esta vía de inoculación es necesario considerar las diferencias entre las formulaciones acuosas y oleosas, ya que las oleosas se depositan por períodos mayores a 24 hs.

Vía Endovenosa (EV)

Bolo:

La sustancia (no viscosa) se inyecta en un período corto, generalmente de manera rápida (menos de 1 minuto). Cuando se inoculan grandes volúmenes, el material debe ser entibiado, a temperatura corporal.

La tasa de administración en roedores no debe exceder los 3ml/min.

Inyección EV lenta:

Este método de administración de drogas se debe considerar cuando se espera una aplicación clínica para la misma o cuando diversos factores como la solubilidad o irritabilidad del material a inyectar lo considere.

Se utilizan diferentes técnicas para evitar la extravasación del material. Para la inyección en un tiempo requerido de 5 a 10 minutos, se aconseja la utilización de un butterfly o cánula EV.

Se ha demostrado en ratas que recibieron inyecciones EV diariamente de solución salina, en dosis de 80ml/kg a 1ml/min, durante 4 días, signos de distress o lesiones pulmonares (Morton et al 1997).

Infusión continua:

El volumen y la tasa de administración dependerán del tipo de sustancia. Se debe tener en cuenta la administración de fluidoterapia. El volumen administrado en dosis única debe ser menor al 10% del volumen de sangre circulante.

Vía Intradérmica (ID)

Esta vía se indica para ensayos de respuestas inmunes, inflamatorias o de sensibilidad. Se pueden utilizar volúmenes de 0,05 a 0,1 ml, dependiendo del grosor de la piel.

3.3. EUTANASIA

3.3.1. INTRODUCCION

Este informe tiene la intención de ser utilizado por veterinarios que puedan llevar a cabo o revisar las técnicas empleadas para realizar la eutanasia.

Aún cuando este informe pueda ser interpretado por una variada gama de profesionales, un veterinario con el entrenamiento apropiado y la experiencia en el manejo de las especies de animales a utilizar, debe ser consultado en última instancia para practicar la eutanasia.

Las recomendaciones en este manual sirven como guía para los veterinarios que deben usar su buen juicio profesional al momento de practicar una eutanasia.

Este manual intenta equilibrar el mínimo dolor y el distress asociado a la eutanasia con la realidad que rodea al momento de practicarla.

El término Eutanasia deriva del término griego *eu*: buena y *thanatos*: muerte (Webster's ninth new collegiate dictionary, 1990). Una "buena muerte" sólo ocurre cuando existe mínimo dolor y distress (AVMA 2000).

El dolor es una sensación (percepción) que resulta de la llegada de un impulso nervioso a la corteza cerebral a través de vías ascendentes neuronales.

Para experimentar dolor, la corteza cerebral y las estructuras subcorticales deben estar funcionales. Si debido a hipoxia, depresión por drogas, shock eléctrico o concusión, la corteza cerebral no es funcional, el dolor no se experimenta. Es por esto que la elección de un método o agente eutanásico se hace menos crítico si el animal está anestesiado o inconciente y no recupera la conciencia previo al momento de la muerte.

Las técnicas utilizadas deben minimizar el distress experimentado por los animales.

Algunos métodos de eutanasia requieren una restricción física de los animales.

La magnitud del control y el tipo de restricción requerida dependen de la especie, raza, tamaño, agresividad, grado de mansedumbre, presencia de enfermedades o lesiones, grado de excitación y método de eutanasia.

Un manejo adecuado es vital para minimizar el dolor y el distress en los animales, asegurar la integridad del personal que ejecuta la eutanasia y proteger a la gente y a los animales.

El personal que lleva a cabo la eutanasia debe estar debidamente entrenado y capacitado, conocer las técnicas a emplear y manejar las técnicas de restricción para los animales con lo que trabaja, tendientes a minimizar el dolor y el distress de los mismos.

El entrenamiento y la experiencia deben incluir el conocimiento del comportamiento normal de los animales a ser eutanasiados y cómo las medidas de restricción y manejo empleadas afectan el normal comportamiento de los animales.

La elección del mejor método de eutanasia en cualquier situación depende de la especie animal, de las medidas de restricción empleadas, habilidad del personal y número de animales.

En todo momento el método de eutanasia aplicado debe ser seleccionado y utilizado con el los mayores estándares ético y conciencia social.

Consideraciones de comportamiento animal

En todo momento se debe intentar minimizar el distress y la ansiedad que acompañan al momento de la eutanasia. Una restricción gentil, preferentemente en un ambiente familiar y seguro para el animal, manejo físico y diálogos cuidadosos durante la eutanasia, generalmente ejercen un efecto tranquilizador en los animales.

La sedación o la anestesia pueden generar un ambiente propicio en las primeras etapas, pero también pueden provocar un retraso del efecto del agente eutanásico, por provocar cambios en la circulación sanguínea.

Las expresiones faciales y los cambios en la postura pueden orientar al operador sobre el estado emocional del animal (32 a 37).

Las respuestas fisiológicas y comportamentales en respuesta a estímulos lesivos incluyen vocalizaciones, intentos de escape, agresión defensiva, salivación, defecación, evacuación de sacos anales, dilatación de pupilas, taquicardia, contracciones musculares esqueléticas que causan temblores, sacudidas y espasmos y en algunos casos, parálisis momentánea.

En algunas especies (conejos y pollos), el miedo provoca inmovilidad o un efecto de “animal muerto”.

La falta de movimiento en los animales no debe interpretarse como un estado de inconciencia.

Las vocalizaciones de distress, los comportamientos defensivos y la liberación de ciertos olores o feromonas por los animales asustados, causan ansiedad y aprehensión en otros animales. Es por esto que no se recomienda la eutanasia de animales en presencia de otros.

Aspecto humano

En todo momento se debe considerar como la eutanasia afecta psicológica, ética y socialmente a los operadores, con la reacción más comúnmente reportada de pérdida de la vida (Hart, L.A., et al; 1990)

El estado de distress también puede verse reflejado en los operadores, investigadores y becarios que pueden verse involucrados sentimentalmente con los animales que serán luego eutanasiados.

La exposición constante o la participación en los procedimientos de eutanasia pueden causar estados psicológicos caracterizados por una fuerte sensación de insatisfacción laboral o alienación, que se puede expresar como ausentismo, bellicosidad o descuido en el manejo de los animales (Pet loss support hotlines; 1999). Estas deben ser reconocidas como una causa principal de rotación de los operadores involucrados en las rutinas de eutanasia.

El personal que lleva a cabo la eutanasia debe ser técnicamente eficiente, utilizar métodos de manejo de animales suaves, conocer los objetivos de la eutanasia y estar familiarizado con los métodos empleados. Deben establecerse programas de entrenamiento, ayuda psicológica profesional en los casos en que los operadores que ejecutan los procedimientos lo requieran y conceder días libres, si el trabajo resulta estresante para el personal. Todas estas medidas tienden a minimizarse el discomfort emocional que involucra la eutanasia. El jefe de grupo y el ambiente de trabajo cumplen una función vital para el buen desarrollo de los procedimientos de eutanasia.

Clasificación de métodos de eutanasia

Los métodos aceptables son aquellos que producen una muerte humanitaria cuando se usan con el solo hecho de producir la eutanasia.

Condionalmente aceptables son aquellas técnicas que por la naturaleza de la técnica o debido a que presentan un gran riesgo de error para el operador o falta de seguridad para el mismo, no pueden producir una muerte humanitaria o bien son métodos que no están bien documentados científicamente.

Las técnicas no aceptables son aquellas que ejercen un trato inhumano a los animales bajo cualquier circunstancia o significan un grado extremo de riesgo para el personal que la ejecuta.

Métodos de eutanasia

Para la evaluación de los métodos de eutanasia, el panel utiliza el siguiente criterio:

- 1) habilidad para inducir pérdida de conciencia y provocar la muerte sin experimentar dolor, distress ansiedad o aprehensión;
- 2) tiempo requerido para provocar pérdida de conciencia;
- 3) practicidad;

- 4) seguridad para el personal;
- 5) irreversibilidad;
- 6) compatibilidad con los propósitos y requerimientos;
- 7) efecto emocional sobre los observadores u operadores;
- 8) compatibilidad con la evaluación subsecuente, exámen o uso de los tejidos;
- 9) disponibilidad de drogas y abuso humano potencial;
- 10) compatibilidad con especie, edad y estado de salud;
- 11) habilidad para mantener el equipo utilizado en condiciones apropiadas;
- 12) seguridad para los predadores que van a consumir la carcasa del animal.

Las consideraciones éticas cuando se debe eutanasiar un animal sano o no reclamado reflejan la preocupación de los profesionales y de la sociedad.

Es imperativo verificar la muerte del animal antes de deshacerse el mismo, mediante el examen clínico, comprobando la ausencia de signos vitales.

Mecanismo de acción de los agentes eutanásicos

Los agentes eutanásicos pueden provocar la muerte por medio de tres mecanismos básicos:

- 1) Hipoxia, directa o indirecta;
- 2) Depresión directa de las neuronas que comprometen las funciones vitales;
- 3) Disrupción física de la actividad cerebral y destrucción de las neuronas que comprometen las funciones vitales.

Para que la muerte sea indolora y sin distress, la pérdida de conciencia debe preceder a la pérdida de la motricidad (movimientos musculares). Sin embargo, la pérdida de actividad motora no debe interpretarse como pérdida de la conciencia y ausencia de distress. Es por esto que los agentes que inducen parálisis muscular sin pérdida del estado de conciencia no son aceptables como agentes únicos de eutanasia (ej: relajantes musculares despolarizantes y no despolarizantes, estriknina, nicotina y sales de magnesio). Con algunas técnicas que producen hipoxia, los animales presentan actividad motora refleja luego de la pérdida de conciencia, pero estos movimientos no son percibidos por el animal.

Los agentes que producen depresión de las células neuronales del cerebro, inducen pérdida del estado de conciencia seguido por la muerte del animal. Algunos de estos agentes pueden provocar una fase de excitación o delirio, durante las primeras etapas de la anestesia, caracterizadas por vocalizaciones y contracciones musculares. La muerte sigue a la pérdida de conciencia y se atribuye a una falla cardíaca y/o a hipoxemia debido a una depresión del centro respiratorio.

La disrupción física del cerebro causada por concusión, destrucción directa del cerebro y despolarización del cerebro, provocan rápida pérdida de la conciencia. La muerte se produce por destrucción de los centros del cerebro que controlan la actividad cardíaca y respiratoria. Con estos métodos puede haber actividad muscular exagerada que pueden seguir a la pérdida de conciencia y puede alterar a los observadores, pero el animal no experimentaría dolor o distress.

Instrumentos.

Los instrumentos, equipo e instalaciones para insensibilizar y sacrificar a los animales serán diseñados, construidos, mantenidos y usados de manera tal que se logre un rápido y

efectivo resultado de su uso. Estos deberán ser inspeccionados por lo menos una vez antes de su uso, para asegurar su buen estado.

Los instrumentos y equipo adecuado para el sacrificio de emergencia, deberán estar siempre

disponibles para su uso en cualquier momento. La instalación, uso y mantenimiento de los instrumentos y equipo para el sacrificio humanitario, deberá realizarse de acuerdo a las recomendaciones del fabricante. Se debe limpiar la sangre la orina y heces ya que podrían causar ansiedad a los animales que vayan a continuación.

Ninguna persona intervendrá en el manejo, insensibilización y sacrificio de los animales, a menos que cuente con la capacitación específica.

Los métodos, sustancias y aparatos de insensibilización y sacrificio así como los métodos, sustancias y aparatos alternativos que en un futuro se recomienden, solamente podrán utilizarse cuando su efectividad esté demostrada con estudios avalados por instituciones científicas reconocidas.

Ningún animal se sacrificará por envenenamiento, ahorcamiento, ahogándolo, por golpes o algún otro procedimiento que cause sufrimiento o prolongue su agonía.

Signos de dolor y angustia

Al determinar el método de eutanasia, se debe considerar la necesidad de minimizar el temor y el recelo. Las vocalizaciones por angustia, la conducta de miedo y la liberación de ciertos olores o feromonas por un animal atemorizado, pueden causar ansiedad y recelo en otros. Hay que tener en cuenta que muchas vocalizaciones son a altas frecuencias y están fuera del rango auditivo humano por ello, cuando sea posible los animales no deben estar presentes durante la eutanasia de otros, especialmente de su misma especie. El último animal extraído de un grupo puede alterarse y por ello los dos últimos animales tendrían que extraerse juntos.

Reconocimiento y confirmación de la muerte

Es importante que el personal este entrenado para reconocer y confirmar la muerte en la especies que este trabajando. Los aspectos más importantes en el reconocimiento de la muerte incluyen el cese del latido cardíaco y la respiración, ausencia de reflejos y en los animales de laboratorio pequeños la bajada de temperatura corporal por debajo de 25°C.

Manejo e inmovilización

Es vital un control adecuado para minimizar el dolor y la angustia de los animales para asegurar que no haya peligro para la persona que lleva a cabo la eutanasia y frecuentemente para proteger a otros animales y personas. Una inmovilización firme por un cuidador conocido, un manejo cuidadoso, acariciar y hablar durante la eutanasia, tienen a menudo un efecto calmante sobre muchos animales. <Puede ser necesaria la utilización previas de fármacos, tranquilizantes e inmovilizantes cuando la captura o inmovilización puedan producir dolor, lesiones, ansiedad en el animal, o peligro del operador.

Eliminación de cadáveres y residuos

Se deben evaluar los posibles riesgos hacia los humanos cuando se conozca que los animales son portadores de agentes zoonóticos, cuando estén tratados con radioisótopos o con productos químicos tóxicos y el personal que maneje estos cadáveres deberá tomar las precauciones necesarias para su protección y la de los demás. Se debe tener cuidado al

deshacerse de los cadáveres y otros residuos, (por ejemplo agua que lleve sustancias disueltas) que no supongan peligro para otras personas o para el medio ambiente. Los métodos químicos (excepto el anhídrido carbónico) no se deben utilizar en animales destinados a consumo humano o cuando cadáver pueda entrar en la cadena alimentaria. Los técnicos deben asegurarse que cumplen legislación nacional e internacional.

Comentarios generales sobre métodos de eutanasia

En esta sección hay una lista con la mayoría los métodos que han sido utilizados para sacrificar animales de experimentación. Para aquellos métodos menos claros que no se mencionan debería asumirse, en general, que NO son considerados aceptables hasta que hayan sido cuidadosamente valorados bajo los criterios dados en la Sección 1 y hayan sido considerados humanitarios por una persona cualificada, como un veterinario o la autoridad competente. Junto con esta sección se debe consultar la Sección 1. Los agentes pueden causar la muerte por tres mecanismos básicos: (1) hipoxia, directa o indirecta; (2) depresión directa de las neuronas esenciales para las funciones vitales; y (3) interrupción física de la actividad del cerebro destrucción de neuronas esenciales para la vida (Andrews *et al.* 1993, Lumb & Jones 1984).

3.3.2. METODOS ACEPTABLES DE EUTANASIA

(Extraído de Recomendaciones para Eutanasia de los animales de experimentación Parte 1: documento elaborado para la Comisión Europea, para ser utilizado con la Directiva 86/609/EEC del 24 de Noviembre de 1986).

1. Métodos físicos

Estos métodos deben producir la inmediata pérdida de consciencia a través del trauma físico del cerebro. Son los mas útiles cuando los métodos farmacológicos puedan interferir en el propósito del experimento. Aunque los métodos físicos pueden ser estéticamente menos agradables para los observadores y los que sacrifican a los animales, en manos expertas son rápidos, seguros y posiblemente los que producen menos angustia en el animal. Para todos estos métodos es esencial la formación de especialistas. Estos métodos necesitan inmovilización, lo cual puede causar estrés adicional para algunos animales. Si es posible, el animal no debería ser sacrificado de modo que pueda ser visto u oído por otros animales.

1.1. Disparo

El disparo en la cabeza, para asegurar la destrucción inmediata del cerebro, es un método de sacrificio efectivo y humanitario para grandes reptiles y mamíferos (Australian Veterinary Association 1987, Longair *et al.* 1991). Se puede dividir en dos tipos: bala libre o bala cautiva (con penetración o percusión). El tipo de arma utilizada se debe seleccionar de acuerdo con la especie que se ha de sacrificar y el entorno.

(a) *Bala libre*: Se debe tener especial cuidado para evitar el peligro para el operador. Todo el personal debe estar entrenado en estas técnicas para asegurar la posición correcta del arma y así alcanzar directamente el cerebro (Longair *et al.* 1991). No se debe realizar dentro de un edificio el disparo de una bala libre, ya que las balas rebotadas pueden causar daño a las personas, pero se puede usar de modo

eficaz en el campo por tiradores expertos. Cuando el animal se pueda sujetar convenientemente es preferible el método de la bala cautiva, ya que es menos peligroso para el personal. En caballos se prefiere un sacrificio humanitario con bala libre (Blackmore 1985, Dodd 1985, Oliver 1979).

(b) *Bala cautiva:*

La bala cautiva penetrante es una herramienta eficaz para conseguir dejar inconscientes a muchos de los animales grandes (Blackmore & Delaney 1988, Daly & Whittington 1989, Green 1987, Longair *et al.* 1991). Los conejos grandes y los perros se pueden sacrificar también de este modo (Dennis *et al.* 1988, Holtzman 1991). Sin embargo, no es siempre efectivo en cerdos grandes ni en toros adultos debido al grosor y densidad del cráneo. El propósito de este aturdimiento por golpe es conseguir que el animal quede inmediatamente insensible al dolor por producirle concusión (Ministry of Agriculture, Food and Fisheries 1993). El animal debe permanecer insensible hasta que se lleve a cabo la exanguinación (Blackmore 1993). Se puede reconocer un golpe eficaz, porque tras el disparo el animal se colapsa inmediatamente quedando su cuerpo y músculos rígidos y no debería presentar el reflejo de la estación. La respiración acompasada normal debería cesar, debería haber pérdida del reflejo palpebral y el ojo debería apuntar hacia fuera y no rotar hacia la zona posterior del cráneo. La efectividad del golpe aturridor depende de la precisión al colocar la pistola, del uso del cartucho adecuado en relación a la especie y tamaño del animal, el tamaño y la velocidad de la bala cautiva y el mantenimiento en condiciones de la pistola. El lugar de penetración difiere con cada especie y por ello este método debería llevarlo a cabo solamente personal adecuadamente entrenado. Se debe utilizar la inmovilización adecuada que prevenga el posicionamiento incorrecto de la pistola. La pistola recomendada es aquella que tenga la bala cautiva retirada en el cañón antes de disparar, mejor que aquella en la que la bala cautiva se extienda más allá del cañón, ya que, la que la tiene retirada es más probable que genere una mayor velocidad de la bala cautiva, en el momento del impacto. El operador debería asegurarse que la bala cautiva se retrae completamente tras cada disparo, de no ser así, no debería volver a utilizar la pistola hasta haber sido reparada. La bala cautiva debe limpiarse siempre adecuadamente tras cada uso.

1. 2. Concusión (aturdimiento por golpe o stunning)

Se puede llevar a cabo de varias maneras dependiendo del tamaño del animal. En animales pequeños como conejos pequeños, gatitos y perritos recién nacidos, ratas, ratones, cobayas jóvenes, hámsters, aves, pequeños reptiles, anfibios y peces (Clifford 1984) un golpe en la cabeza puede ser suficiente para dejar al animal insensible (Green 1987). Para la correcta elección del método a utilizar son esenciales experiencia y entrenamiento. Con animales mayores se debe utilizar equipamiento especializado del tipo de la bala cautiva no penetrante. *No está indicada la utilización del martillo o del hacha de matadero* como método para aturdir por golpe. Estos métodos deben ir siempre seguidos de la inmediata exanguinación, extracción del corazón o destrucción del cerebro para asegurar la muerte. Para todos los operarios es esencial el entrenamiento. Si no se realiza correctamente puede dar lugar a varios grados de consciencia con dolor concomitante. Es difícil asegurar la estabilidad en la actuación de los operarios, y por ello, sólo se deberían sacrificar, cada vez, unos pocos animales. Se debe confirmar la muerte de cada animal antes de aturdir al

siguiente. Se ha utilizado con éxito un chorro de agua a alta presión para el aturdimiento de cerdos. Es un método aceptado en Suiza (Schatzmann *et al.* 1991, 1994).

1. 3. Aturdimiento eléctrico

Ha sido utilizado con peces, anfibios, aves, perros y otros carnívoros, aves de corral, cerdos (Lambooy & van Voorst 1986, Laursen 1983) ovejas, terneros, cabras y conejos (Warrington 1974). Los animales con cuernos no se deben aturdir utilizando este método, si éstos dificultan la aplicación de los electrodos con precisión. No se debería utilizar en gatos debido a la alta conductividad de su pelaje (Green 1987). No es aceptable para utilizar con peces, ya que la corriente alterna estimula la contracción de la musculatura esquelética, cardíaca y lisa, induciendo tetania, no anestesia. Para este método de eutanasia debería usarse solamente un equipo específico. Se puede utilizar la corriente alterna para aturdir a los animales, (Breazile & Kitchell 1969) pero debe estar seguido por otro método para completar la muerte. De modo alternativo, se puede conseguir inconsciencia inmediata con parada cardíaca si los electrodos se aplican simultáneamente sobre la cabeza y el lomo del animal, pero se deben colocar los electrodos de tal modo que aseguren que la corriente se dirige a través del cerebro, para producir inconsciencia antes de la fibrilación cardíaca (Andrews *et al.* 1993). Normalmente se aplica la corriente en la cabeza del animal por medio de un par de tenazas semejantes a tijeras, con un electrodo al extremo de cada brazo. Los aturdidores de alto voltaje son mas efectivos. Los animales deben estar adecuadamente sujetos, de modo que las tenazas se puedan aplicar con precisión. Los electrodos deben ir de lado a lado del cerebro y ser aplicados firmemente de modo que mantengan su posición cuando el animal caiga al suelo (Ministry of Agriculture, Food and Fisheries 1993). No es aceptable el aturdimiento de cabeza a cola ni de cabeza a pezuña, ya que no causa la inconsciencia inmediata (Breazile & Kitchell 1969). Los electrodos no se deben aplicar detrás de las orejas o a ambos lados del cuello, porque paralizaría al animal sin llegar a la inconsciencia, dando como resultado dolor intenso y sufrimiento. Se debe tener cuidado para asegurar que el animal no recibe una descarga eléctrica antes de la aplicación correcta de los electrodos, situación que puede darse por contacto con otros animales que estén siendo aturridos o por tener la piel húmeda. El aparato debe tener un mecanismo que prevenga su funcionamiento si no le llega la cantidad mínima de corriente requerida, así mismo, debe tener mecanismos para medir el tiempo de aplicación, indicadores de voltaje e intensidad de corriente. Los signos de un aturdimiento eléctrico eficaz son la extensión de los miembros, opistotonos, (arqueamiento del cuerpo y espasmos de las extremidades) rotación hacia abajo de los globos oculares y espasmos tónicos que cambian a clónicos con periodos de flacidez muscular. Tras quince o veinte segundos pueden reaparecer los reflejos y el animal puede volver a respirar por eso debe llevarse a cabo inmediatamente otro método para asegurar la muerte, como la exanguinación (Anil & McKinistry 1991). Si el animal no se aturde correctamente, puede quedar paralizado mientras mantiene plena consciencia y es capaz de sentir dolor .

1. 4 Dislocación cervical

Este método se utiliza para la eutanasia de peces, aves de corral, ratones, cobayas jóvenes, ratas jóvenes, conejos neonatos y gatos y perros recién nacidos (Clifford 1984, Green 1987, Reilly 1993). Se puede utilizar en ratas de más edad y en conejos de hasta un kilogramo si están sedados o aturridos antes de la dislocación. Gregory y Wotton (1990) mostraron que utilizando este método no siempre hay inconsciencia inmediata en aves de corral. Se debe

tener cuidado para asegurar la separación completa medula/encefalo. Si se lleva a cabo correctamente debe causar graves daños al tallo cerebral y una inconsciencia instantánea (Iwarsson & Rehbindler 1993). Se debe confirmar la muerte por exanguinación o destrucción del cerebro (Blackmore 1993). Llevarlo a cabo puede resultar estéticamente desagradable para el operador y se recomienda, si el operador no está totalmente seguro de llevar a cabo esta técnica rápida y eficazmente, que utilice otro método. Cuando sea posible, los animales deberían estar sedados o anestesiados antes de la dislocación.

2.1.5 Decapitación

Este procedimiento se ha utilizado para sacrificar peces, anfibios, aves, roedores y conejos pequeños. La decapitación implica la separación del cuello del animal muy cerca de la cabeza utilizando un instrumento afilado. No se recomienda la utilización de tijeras, a menos que sean adecuadas para la especie animal (esto es, que tengan unas cuchillas lo suficientemente largas) y que la presión sea lo suficientemente fuerte para separar el cuello con facilidad al primer intento. La decapitación debería ser realizada utilizando guillotinas especialmente diseñadas con ese fin, para asegurar una separación rápida en la posición correcta (Clifford 1984). Se ha debatido ampliamente acerca del tiempo que tarda la cabeza decapitada en perder la consciencia, tanto en vertebrados homeotermos (de “sangre caliente”) como en poiquilotermos (de “sangre fría”) (Allred & Berntsen 1986, Andrews *et al.* 1993, Blackmore 1993, Holson 1992, Lorden & Klemm 1987, Mikeska & Klemm 1975, Reilly 1993, Tidswell *et al.* 1987, Vanderwolf *et al.* 1988) y se ha sugerido anestesiarse o sedar antes al animal (Smith *et al.* 1986). Sin embargo, la inyección de sedantes o anestésicos antes de la decapitación podría incrementar el estrés previo a la eutanasia, por lo que no se considera positivo para el bienestar del animal. En vertebrados poiquilotermos (de “sangre fría”) los animales deben ser aturdidos o insensibilizados antes de la decapitación, ya que son muy tolerantes a la anoxia (Warwick 1986). La investigación en aves ha evidenciado que se pueden evocar respuestas a estímulos visuales hasta 30 segundos después de la decapitación, (Gregory & Wotton 1990) lo que hace que sea inaceptable. En otros animales homeotermos, se considera que la falta inmediata de riego sanguíneo al cerebro y la anoxia subsiguiente deja la cabeza rápidamente insensible, (Der. 1991) haciendo innecesario el aturdimiento o la sedación previa. No se acepta el uso de la puntilla (Comisión de la Comunidades Europeas 1993). Se prefiere el uso de otros métodos cuando sea posible, hasta que investigaciones más avanzadas puedan hacer evidente una pérdida rápida de consciencia.

1.5. Maceración

Está aceptado este método para la destrucción de pollitos de hasta 72 horas de vida que, a menudo, tienen que ser sacrificados en gran número (Bandow 1987, Comisión de la Comunidades Europeas 1993). *Sólo se deben utilizar maceradores específicamente diseñados con este fin, y bajo ninguna circunstancia deberían utilizarse aparatos eléctricos caseros.* Los peces muy pequeños (<2 cm de largo) se pueden sacrificar introduciéndolos en una unidad de eliminación de residuos (Bannister, comunicación 1995).

1.6. Irradiación con microondas

Este método lo usan los neurobiólogos como medio para fijar los metabolitos del cerebro, sin que pierda su integridad anatómica (Morojiet *al.* 1977). Sólo se pueden utilizar aparatos especiales diseñados con este propósito (lo que no incluye los hornos microondas del hogar). Esto implica enfocar con precisión el rayo de microondas a una parte específica del

cerebro. Sólo se debe realizar en animales pequeños como anfibios, aves, ratones, ratas y conejos pequeños (menores de 300 gramos) (Zeller *et al.* 1989). Este método requiere la pericia de un especialista, pero cuando se lleva a cabo correctamente es humanitario, ya que la muerte sucede en cuestión de milisegundos (Andrews *et al.* 1993, Bermann *et al.* 1985, Olfert *et al.* 1993). Hay que tener mucho cuidado para asegurar la posición correcta del rayo de microondas, pero el tiempo que lleve la inmovilización del animal debe ser el mínimo posible para reducir el estrés previo a la eutanasia. Se ha utilizado con éxito la irradiación de todo el cuerpo en ratones a 47- 49°C, muriendo los animales en menos de un segundo, (Von Cranach *et al.* 1991a, b) y es aceptable (Schatzmann, comunicación 1995). *Este no es un procedimiento rutinario para eutanasia.* Se deben tomar precauciones, ya que puede ser peligroso para el operador (Bermann *et al.* 1985).

2. Métodos químicos

Muchos anestésicos se utilizan en sobredosis como agentes eutanásicos. Un anestésico es un agente que produce, de un modo controlado, la ausencia de percepción de cualquier sensación. Produce inconsciencia, analgesia y relajación muscular suficiente para realizar los procedimientos sin dolor. Las manifestaciones por sobredosis de anestésico incluyen: aparición de arritmias cardiacas; el tiempo de llenado capilar aumenta progresivamente hasta 3 o más segundos; la respiración se hace más lenta, superficial e irregular, se vuelve diafragmática o puede cesar; el color de la piel y de las membranas mucosas puede ser de pálido a cianótico; los reflejos cardiovasculares, del sistema nervioso central, musculoesqueléticos, gastrointestinales y oculares están enormemente disminuidos o abolidos; la presión sanguínea cae rápidamente hasta producir una profunda hipotensión (valor medio <20-30 mmHg).

2.1 Agentes inhalatorios

Los agentes inhalatorios son, o bien vaporizados, o bien conducidos como gas hasta cámaras o circuitos anestésicos. Las cámaras que se utilicen para la distribución de estos agentes, deben estar diseñadas adecuadamente, de modo que aseguren la distribución uniforme del gas y la rápida exposición de los animales a una concentración alta del agente. Su utilización es de gran interés en muchos animales pequeños, por ejemplo aves, roedores, gatos y perros pequeños (Smith *et al.* 1986). En conejos es preferible usar otros métodos ya que reaccionan adversamente a los gases y muestran signos de excitación (Green 1979). Los reptiles y los anfibios pueden aguantar la respiración, lo que conduce a un alargamiento del tiempo de inducción. Los animales recién nacidos son más resistentes a la hipoxia y tardan más tiempo en morir: por ello hay que utilizar otros métodos. Es importante seleccionar agentes que no sean desagradables al ser inhalados, porque algunos pueden ser irritantes y por ello estresantes. Los agentes que produzcan convulsiones antes de la inconsciencia son inaceptables para la eutanasia. Cuando se administren agentes inhalatorios hay que tomar precauciones de seguridad, utilizando un equipo adecuado de recogida de gases. Se debe confirmar la muerte.

Dióxido de carbono

A concentraciones superiores al 60% el dióxido de carbono (anhídrido carbónico) actúa como un agente anestésico y produce rápidamente la pérdida de consciencia (Green 1987). Es muy eficaz y humanitario para la eutanasia de la mayoría de los animales pequeños utilizándolo por encima del 70% de concentración. El dióxido de carbono estimula el centro

respiratorio, lo que puede causar al animal ansiedad y estrés y al mismo tiempo resultar para el observador estéticamente desagradable. El dióxido de carbono puede formar ácido carbónico al contactar con las membranas mucosas nasales, lo cual puede producir un efecto de hormigueo o picazón, que puede resultar moderadamente irritante para algunas especies cuando se utiliza en concentraciones menores (Lucke 1979). Para la mayoría de los animales, se recomienda situarlos inmediatamente en atmósfera de CO₂ >70% , ya que pierden la consciencia muy rápidamente debido al efecto narcótico del alto aporte de CO₂ al cerebro, sin producir hipoxia (Blackshaw *et al.* 1988, Forslid *et al.* 1986). En animales conscientes el 100 % de CO₂ puede causar grave disnea y angustia (van Zutphen *et al.* 1993). Se recomienda el 100 % de CO₂ para pollitos de hasta 72 horas de vida, porque son más tolerantes al CO₂. Raj y Gregory (1993, 1994) y Raj *et al.* (1990,1992) mostraron que el uso de un 60% de argón junto con CO₂ inducía la rápida pérdida de las funciones cerebrales en pavos. Las aves de más edad pueden extender sus alas al ser sacrificadas con CO₂ incluso en estado de coma, lo que lo hace estéticamente menos aceptable. Para pollos y pavos se consideran aceptables concentraciones bajas de CO₂ (30%) utilizándolo junto con otro gas inerte. A esta concentración no es excesivamente picante y actúa como un anticonvulsivante. En peces produce una actividad intensa antes de la pérdida de consciencia y actúa despacio por lo que no está recomendado. No se debe utilizar para gatos y especies mayores, porque a veces produce excitación (Glen & Scott 1973, Klemm 1964) y algunos animales tienen aversión a su olor picante. Los cerdos vocalizan antes de perder la consciencia, indicando un cierto nivel de angustia (Gregory *et al.* 1987) y otras personas también han indicado que no es humanitario para cerdos, (Clifford 1984, Hoenderken 1983, Hoenderken *et al.* 1980, Reilly 1993) en contra de las recomendaciones de la CE y las nacionales para sacrificio (Comission of the European Communities 1993 , Ministry of Agriculture , Food and Fisheries 1993). Otras investigaciones indican que las reacciones violentas pueden producirse después de la inconsciencia (Andrews *et al.* 1993, Erhardt *et al.* 1989, Forslid *et al.* 1986, Mullenax & Dougherty 1963). Es preferible utilizar otros métodos en cerdos hasta que nuevas investigaciones puedan mostrar cualquier reacción adversa, o utilizarlo cuando estén totalmente anestesiados. No es aceptable para los vertebrados poiquiloterms, ya que la inducción es demasiado larga. Los neonatos son particularmente tolerantes al CO₂ , (de 30-60 minutos hasta quedar inconscientes (van Zutphen *et al.* 1993) dependiendo de la madurez en el momento del nacimiento (aquellos que nacen más maduros son menos tolerantes al CO₂). Por ello, este método no deberá utilizarse en animales de menos de dos semanas de edad. No se debe usar el dióxido de carbono con animales que bucean, como el visón, debido a su capacidad para aguantar la respiración. Se han llevado a cabo investigaciones examinando las posibles ventajas de añadir oxígeno para asegurar que los animales mueren por narcosis de CO₂ , más que por hipoxia (Iwarsson & Rehbindler 1993). En algunas especies parece reducirse el estrés y la ansiedad, pero está acompañado de un tiempo de inducción más largo (Blackmore 1993). Hewett *et al.* (1993) manifestó que no había ventajas para el bienestar al utilizar mezclas de CO₂ /O₂. Puede resultar difícil mezclar gases con precisión para uso rutinario. El dióxido de carbono es más pesado que el aire, por ello un llenado incompleto de la cámara eutanásica puede permitir evitar la exposición al gas a los animales altos o que trepen. Por ello la cámara debe ser llenada previamente con CO₂ hasta el 70% antes de introducir los animales en ella. Sin embargo, otros opinan que puede ser mejor llenar la cámara una vez que los animales han sido colocados en ella. Las cámaras deben estar diseñadas para evitar que se hagan daño los animales y, si es posible, disponer de mecanismos por los que la

concentración de CO₂ se pueda medir rápidamente y con exactitud. Hay que tener la precaución de limitar el número de animales que se pongan cada vez en la cámara, para mantener constante la concentración de CO₂. El dióxido de carbono no es inflamable ni explosivo, por lo que presenta poco riesgo para el operador. Los extintores contra incendios y la nieve carbónica no son aceptables por la baja temperatura de ambos y el ruido que produce el extintor.

Monóxido de carbono

Produce una muerte rápida, ya que se mezcla con los eritrocitos en competencia por el oxígeno, produciendo de este modo hipoxia (Chalifoux & Dallaire 1983). Como no tiene olor la angustia es mínima o no existe, (Blackmore 1993, Breazile & Kitchell 1969, Green 1987, Smith *et al.* 1986). En reptiles no es aceptable debido a su bajo metabolismo y a su tolerancia a la hipoxia. Esta aceptado para pequeños animales, pero en perros y gatos después de la inconsciencia pueden aparecer vocalizaciones y convulsiones, haciéndolo estéticamente desagradable. La muerte debe confirmarse por métodos físicos. El monóxido de carbono se puede conseguir de tres maneras: por interacción química de formiato sódico con ácido sulfúrico; de colectores de motores de combustión interna; y gas CO comprimido comercial. El monóxido de carbono del escape de un motor de gasolina es muy irritante para las vías respiratorias. Para llegar a utilizarse en eutanasia, debe ser enfriado a través de una cámara de agua y filtrado, utilizando una unidad depuradora de gases para retirar los diversos óxidos de nitrógeno, restos de hidrocarburos, óxidos de hidrocarburos y partículas de carbono. Bajo ninguna circunstancia se utilizarán los gases de salida de motores diesel. Solamente está recomendado el CO comercial. Los animales se introducirán en la cámara solamente después de haberla llenado con un 6% en volumen de CO proveniente de una fuente de CO puro. Ya que es extremadamente nocivo y peligroso para el operador, al no ser detectable, sólo debe utilizarse en un aparato de recogida de gases apropiado, tomando precauciones extremas. Deben instalarse en la habitación monitores de monóxido de carbono.

2.2. Anestésicos inhalatorios volátiles

Cuando se utilice cualquier anestésico líquido, se debe de tener mucho cuidado en no permitir al animal entrar en contacto con él. Se debe asegurar suficiente aporte de aire u oxígeno, durante el periodo de inducción para prevenir la hipoxia (Andrews *et al.* 1993). La exposición a gases anestésicos en concentraciones traza, está reconocida como un riesgo para la salud de los humanos y requiere el empleo de aparatos de recogida de gases, para ser utilizados en el ambiente de trabajo. Los anestésicos inhalatorios volátiles no son inflamables ni explosivos.

Halotano

El halotano es un agente anestésico usado comúnmente para pequeños animales de laboratorio y es de actuación rápida y libre de estrés cuando se utiliza en sobredosis para eutanasia. Posee un efecto depresor sobre los sistemas cardiovascular y respiratorio (Green 1987).

Enflurano

El enflurano es un agente anestésico usado comúnmente para pequeños animales de laboratorio y es de actuación rápida y libre de estrés cuando se utiliza en sobredosis para

eutanasia (Green 1987). Posee un efecto depresor sobre los sistemas cardiovascular y respiratorio. Se le preferirá respecto del halotano cuando se realicen trabajos de metabolismo de fármacos o toxicología, ya que en el hígado se metaboliza una cantidad muy pequeña de esta sustancia.

Isoflurano

El isoflurano es un agente anestésico utilizado comúnmente, es de actuación rápida y libre de estrés para eutanasia usado en sobredosis. El isoflurano produce depresión respiratoria y cardiovascular, sin embargo, tiene un olor picante por lo que no debe usarse con animales que sean capaces de aguantar la respiración. Es particularmente útil cuando se vayan a usar tejidos como el hepático, para estudios toxicológicos o microsomales, ya que no experimenta metabolismo hepático.

2.3. Agentes para animales acuáticos, para su absorción a través de la piel y las agallas

Benzocaina (etil aminobenzoato)

Este agente, disuelto en acetona antes de añadirlo al agua del tanque, es un método efectivo y humanitario para sacrificar peces y anfibios. Actúa deprimiendo el sistema nervioso central. Posee eficacia pH-independiente, pero reduce el pH del agua del tanque, por lo que deberá tamponarse a pH 7.5 para reducir la irritación (Brown 1988, Summerfelt & Smith 1990). El tiempo de descomposición en agua es de unas 4 horas lo que hace que sea medioambientalmente seguro y además lo es para el personal. Se ha de confirmar la muerte por medios físicos.

Tricaína metano sulfonato (MS-222 tamponado)

El MS-222 es un método de eutanasia humanitario y seguro para peces y anfibios. Se ha utilizado en serpientes y caimanes inyectándolo intramuscularmente, pero tiene un periodo de inducción largo por lo que crea angustia. Actúa deprimiendo el sistema nervioso central. Es soluble tanto en agua salada como dulce, pero necesita ser neutralizado con bicarbonato, imidazol, fosfato ácido de sodio, o hidróxido sódico para reducir la irritación y el daño tisular (Brown 1988). La efectividad del MS-222 varía con la especie, tamaño, temperatura y dureza del agua. El MS-222 no es estable a la luz solar y las soluciones almacenadas se deberán guardar en botellas de vidrio ámbar u opacas. Se puede utilizar junto con quinaldina o sulfato de quinaldina lo que lo hace más eficaz, necesitándose menores cantidades que si se utilizasen cualquiera de los agentes por separado.

Etomidato y metomidato

Ambos son agentes hipnóticos no-barbitúricos que actúan deprimiendo el sistema nervioso central. Son de actuación relativamente rápida y están considerados como agentes humanitarios para el sacrificio de peces. Son altamente solubles en agua (Brown 1988, Summerfelt & Smith 1990).

Quinaldina (2-metilquinolina)

Esta sustancia se utiliza en los Estados Unidos de América (USA) para el sacrificio humanitario de peces. Sin embargo, es raramente utilizado y difícil de conseguir en Europa. Se debe disolver previamente en acetona, pero no tiene efectos adversos en los animales.

Tiene un periodo de inducción relativamente largo en comparación con otros agentes. La quinaldina se acumula en tejidos ricos en lípidos como el cerebro. Deprime los centros sensoriales del sistema nervioso central (Summerfelt & Smith 1990). También se puede utilizar el sulfato de quinaldina para la eutanasia de peces.

2.4 Agentes inyectables

Muchas mezclas patentadas, específicamente preparadas para la eutanasia de los animales, son sencillamente agentes anestésicos de potencia triple, como el pentobarbital sódico, pero otros pueden llevar incorporados agentes bloqueantes neuromusculares. Es esencial que el animal esté totalmente anestesiado antes de hacer efecto los agentes bloqueantes neuromusculares, para prevenir la angustia en el animal. Antes de utilizar cualquier agente para eutanasia el técnico consultará el prospecto con referencia a la dosis y vía de inyección. En general, cuando se utilizan agentes anestésicos, el doble de la dosis anestésica produce parada respiratoria, mientras que cuatro veces esa dosis produce parada cardiaca cuando se utiliza ventilación asistida. Tres veces la dosis, normalmente, produce la muerte rápida y uniformemente en animales no ventilados. Se puede administrar la inyección por varias vías. Se prefiere la administración intravenosa porque el efecto es más rápido y fiable. Es más fácil de administrar la inyección intraperitoneal, especialmente en especies en las que las venas son pequeñas y difíciles de acceder, pero lleva más tiempo para que actúe pudiendo causar irritación y durante ese tiempo dolor y angustia. Debe evitarse la inyección intrapulmonar debido a las molestias que puede causar. No son aconsejables las rutas oral y rectal debido al prolongado comienzo de la acción, amplio rango de la dosis letal y la irritación potencial de los tejidos. Las vías intramuscular y subcutánea no se deben utilizar ya que tardan mucho tiempo en actuar. La vía intracardiaca es muy dolorosa y no siempre se tiene éxito al primer intento de penetrar el corazón; por ello estas técnicas no se recomiendan excepto en animales insensibilizados. A los animales excitables y bravos se les tratará previamente con una combinación neuroleptoanalgésica, un tranquilizante u otro depresor del SNC. Es esencial para la utilización de estos métodos que el personal esté entrenado. Debido a los residuos en la carne, hay que tener cuidado con la eliminación de los cadáveres. También se deben tomar precauciones para asegurar la seguridad del personal.

2.4.1. Barbitúricos

Son los agentes eutanásicos más ampliamente utilizados y aceptados para la mayoría de los animales (Hatch 1982). Incluye los derivados del ácido barbitúrico, oxibarbitúricos (Pentobarbital sódico, secobarbital), tiobarbitúricos (tiopental) y varias mezclas de barbitúricos. El pentobarbital sódico está considerado comúnmente como el agente más adecuado. Todos ellos actúan deprimiendo el sistema nervioso central (SNC) y producen parada cardiaca y respiratoria. Producen una rápida eutanasia con un mínimo de molestia, dependiendo de la dosis del agente y la ruta de inyección (se prefiere la ruta intravenosa ya que es la más rápida). En algunos países solo se pueden obtener los barbitúricos con licencia.

Pentobarbital sódico

Se utiliza generalmente tanto en inyección intravenosa como intraperitoneal en la concentración del 18%, (200 mg/ml) a una dosis de 200 mg/kg para eutanasia. La inyección intravenosa produce una muerte más rápida, pero la ruta intraperitoneal puede ser más fácil

de realizar en muchas especies, reduciendo de ese modo el estrés causado por la manipulación. Sin embargo, el pentobarbital sódico puede producir irritación del peritoneo lo que se puede evitar diluyéndolo. La inyección intracardiaca sólo puede utilizarse si el animal está totalmente anestesiado, ya que es muy doloroso y por ello no se considera aceptable. La inyección intracefálica (foramen magnum) es eficaz en aves grandes como las de corral, pero requiere la pericia de un experto.

T-61

Este agente combina un anestésico local, (clorhidrato de tetracaína) un hipnótico y una sustancia curariforme (N-2-(m-metoxifenil)-2- etilbutil-1-gamma-hidroxitiramida (20%, 4,4'-metilen bis-ciclohexiltrimetil yoduro amónico (0,5%) e clorhidrato de tetracaína (0,5 %) en solución acuosa con formamida). Sólo se puede inyectar de modo intravenoso muy lento, ya que de otro modo es doloroso. En aves pequeñas se puede inyectar en el músculo pectoral, pero no es adecuado para aves de corral. Se debe sedar al animal antes de la administración de T-61. Se suscitó interés acerca de si el fármaco curariforme podía causar el cese de la actividad respiratoria antes de quedar inconsciente, (Barocio 1983, Baumans *et al.* 1988, Eikmeier 1961, Quin 1963, Lumb *et al.* 1978, Rowan 1986) causando por ello angustia al animal, pero Hellebrekers *et al.* (1990) mostró que la pérdida de consciencia y la pérdida de actividad muscular en conejos y perros, aparecían simultáneamente, haciendo por esto que este agente sea aceptable para la eutanasia. El relajante muscular previene el bloqueo terminal descrito en los barbitúricos, haciéndolo más aceptable para el observador. En algunos perros hay vocalización y actividad muscular. No es una respuesta consciente, pero puede ser estéticamente desagradable. En muchos países no es una sustancia controlada y por ello puede ser más fácil de obtener que los barbitúricos. En otros países, como en Suecia, no está disponible.

3. Métodos aceptables con animales inconscientes

3.1. Inserción de aguja

Es un método eficaz para el sacrificio de algunos peces, anfibios y reptiles. Se lleva a cabo insertando una aguja afilada a través del foramen magnum hasta la base del cerebro, para asegurar la rápida destrucción del mismo. Si no se lleva a cabo correcta y rápidamente el animal permanecerá consciente con los consiguientes dolor y angustia. Se debe dejar primero inconsciente al animal por aturdimiento o con anestesia. Este método debe ser realizado por personal competente.

3.2. Congelación rápida

La congelación rápida se ha utilizado para minimizar la actividad enzimática, paraposteriores estimaciones bioquímicas de tejidos. Las técnicas implican: (a) inmersión del animal intacto en nitrógeno líquido; (b) decapitación e inmersión inmediata de la cabeza en nitrógeno líquido; (c) congelación forzada; congelación *in situ* y túnel congelador. Antes de cualquier método de congelación hay que dejar a los animales totalmente anestesiados, insensibilizados o decapitados, ya que se ha visto que se puede tardar de 10 a 90 segundos en congelar las estructuras profundas por la baja conductividad térmica de los tejidos que rodean al cerebro. Sólo es aceptable bajo determinadas circunstancias cuando el diseño experimental necesita este tratamiento en animales muy pequeños, como embriones,

roedores y conejos neonatos (Green 1987, Van Zutphen *et al.* 1993). El personal que realice estas técnicas debe estar bien entrenado y necesita equipamiento especial.

3.3. Exanguinación

Sólo se llevará a cabo la exanguinación total después de dejar insensible al animal por otro método, debido al estrés asociado con la hipovolemia extrema, y el dolor producido al incidir vasos sanguíneos profundos. No se debe exanguinar a un animal de modo que otros animales puedan verlo u olerlo, utilizando otra habitación cuando sea posible. *No es un método aceptable para el sacrificio de aves*, debido a la tendencia de su sangre a formar coágulos, lo que resulta una exanguinación incompleta y por ello una eutanasia inadecuada. *Tampoco es aceptable para reptiles y otros vertebrados poiquilotermos* por su bajo metabolismo y su tolerancia a la hipoxia.

3.4. Nitrógeno/argón

El nitrógeno o el argón desplazan el O₂ y producen la muerte por hipoxia. Al 39% de concentración, las ratas quedan inconscientes pero no hasta los 3 minutos, mostrando signos de pánico y angustia (Andrews *et al.* 1993). En animales jóvenes produce inconsciencia pero no la muerte. En perros y gatos la aparición de la inconsciencia tarda 1-2 minutos, con hiperpnea unos diez segundos antes del colapso (Herin *et al.* 1978, Quine 1980, Quine *et al.* 1988, Rowsell 1981, 1990). Por ello, *no es un método aceptable a menos que el animal este anestesiado.*

3.5. Etanol

Este método, descrito por Lord, (1989, 1991) consiste en la inyección intraperitoneal en ratones de 500 µl de etanol al 70%. El etanol produce depresión del sistema nervioso central. Los ratones manifiestan una gran pérdida de control muscular, antes de entrar en coma, seguido de una parada respiratoria. Puede haber irritación del peritoneo. Wallgren y Barry III (1970) establecieron que es irritante a concentraciones superiores al 10% peso/volumen y que la mortalidad se debe a trauma inespecífico. *No es aceptable para la eutanasia en vertebrados, a menos que estén anestesiados.*

3.6. Hidrato de cloral

Actúa por depresión lenta del sistema nervioso central. No es aceptable su uso por si solo, ya que carece de efectos analgésicos, tarda mucho en hacer efecto, produce movimientos en el animal estéticamente cuestionables, se necesitan grandes volúmenes y causa irritación en el peritoneo (Breazile & Kitchell 1969, Hatch 1982). Se puede utilizar para grandes animales por vía intravenosa bajo anestesia, (Lumb 1974) o en combinación con sulfato magnésico o pentobarbital sódico (Olfert *et al.* 1993).

3.7. Cloruro potásico

El ión potasio es cardiotóxico. El cloruro potásico produce jadeo, vocalizaciones, espasmos musculares y episodios convulsivos (Lumb 1974). Además no es agradable para el observador. *No es aceptable para eutanasia a menos que el animal este totalmente anestesiado.*

3.8. Embolia gaseosa

Consiste en la inyección intravenosa de 5 a 50 ml/kg de aire. Se ha usado ocasionalmente en conejos (Weisbrod *et al.* 1984). Se puede acompañar de convulsiones, opistotonos y vocalizaciones (Hatch 1982). Es un método muy doloroso y poco fiable y *no es aceptable a menos que el animal este totalmente anestesiado.*

4. Métodos que no son aceptables para eutanasia

4.1. Descompresión/vacío

Este método actúa por inducción de hipoxia cerebral. Puede haber efectos físicos adversos debidos a los gases atrapados en las cavidades corporales (por ejemplo senos, trompas de eustaquio) al expandirse, lo que puede causar dolor intenso y molestias antes de quedar inconsciente el animal (Von Cranach *et al.* 1991a). Existe además la posibilidad de fallo del equipo, resultando una rápida recompresión con dolor intenso y angustia en los animales. El animal inconsciente puede hincharse, sangrar, vomitar, convulsionarse, orinar y defecar y es estéticamente desagradable para el observador (Booth 1978, Hatch 1982). También puede tardar algún tiempo hasta quedar inconsciente (Barber 1972). *Por estas razones no es aceptable como método de eutanasia.*

4.2. Hipotermia

La hipotermia consiste en sacrificar a los animales exponiéndolos a muy bajas temperaturas, como por ejemplo en los ultracongeladores. Se sabe que la hipotermia actúa como un agente anestésico hasta cierto punto (Phifer & Terry 1986). *Sin embargo, no es un método de eutanasia aceptable para ningún animal.* Sólo se pueden utilizar los ultracongeladores para asegurar la muerte una vez que el animal este totalmente inconsciente y sea improbable que se recupere (Summerfelt & Smith 1990).

4.3. Hipertermia

Se ha sugerido para algunos vertebrados poiquiloterms la elevación de la temperatura con el fin de sacrificarlos, ya que morirán por encima de su temperatura crítica, la cuál puede ser de solamente unos grados por encima de su rango de actividad normal, pero *esto no es aceptable. Los animales nunca serán introducidos en agua hirviendo ya que causa un dolor intenso y una muerte lenta.*

4.4. Ahogamiento/extracción del agua

El ahogamiento no es un método humanitario de eutanasia para ningún vertebrado ya que es lento, produce estrés intenso y ansiedad por la hipoxia. No es aceptable el sacar del agua a los vertebrados con agallas (incluyendo los renacuajos) (Kestin *et al.* 1991).

4.5. Rotura de cuello

Se ha utilizado algunas veces este método para sacrificar aves. Se presiona el cuello del ave de pequeño tamaño contra una barra, también pueden usarse alicates especiales o calibres para hueso. Sin embargo, esto sólo produce parálisis por la destrucción de la médula espinal y no daña al cerebro con la posibilidad consiguiente de mantener la consciencia con dolor, temor y angustia. Este método no es aceptable para la eutanasia de aves ni de ningún animal.

4.6. Estrangulamiento

Este no es un método aceptable para sacrificar ningún animal, debido al tiempo que tarda en quedar inconsciente, el dolor, la excesiva ansiedad y el estrés que produciría.

4.7. Protóxido de nitrógeno

Son necesarias concentraciones hipóxicas de casi el 100% para conseguir la eutanasia y es de actuación lenta causando por ello estrés innecesario. El animal se convulsionará después de perder la consciencia, lo que reduce la aceptabilidad para el observador. No es un agente eutanásico aceptable. Sin embargo, se puede utilizar con otros agentes para acelerar el comienzo de la anestesia.

4.8. Ciclopropano

El ciclopropano es un método humanitario de eutanasia para la mayoría de los animales de laboratorio, ya que produce una anestesia rápida y profunda. Sin embargo, es inflamable con aire y explosivo con oxígeno, lo que lo hace peligroso para el técnico. Esto reduce su aceptabilidad como agente para eutanasia.

4.9. Éter (éter dietílico)

El éter es irritante para las membranas mucosas y a concentraciones altas, habitualmente encontradas en el interior de los contenedores y campanas, puede ser estresante para los animales, ya que eleva las catecolaminas (Blackshaw *et al.* 1968, Breazile & Kitchell 1969, Green 1987). Si se utiliza con un vaporizador resulta menos irritante (Baumans, comunicación 1995). A altas concentraciones eleva significativamente algunos parámetros bioquímicos sanguíneos (por ejemplo glucosa). Es peligroso para el técnico por sus propiedades explosivas. *No es un método aceptable de eutanasia.*

4.10. Cloroformo

Actúa deprimiendo el sistema nervioso central y produce fallo cardiaco y respiratorio. No es aceptable como agente eutanásico ya que es hepatotóxico, nefrotóxico y carcinogénico para el técnico y para otros animales. Antes de la pérdida de consciencia produce excitación (Breazile & Kitchell 1969). Concentraciones traza introducidas en centros de cría han mostrado interferir seriamente con los programas de cría en roedores (Green 1987).

4.11. Metoxiflurano

El metoxiflurano se utiliza habitualmente como agente anestésico, pero es de actuación muy lenta y existe una gran probabilidad de recuperación total incluso después de veinte minutos de sobredosis. Es difícil de obtener en Europa.

4.12. Tricloroetileno

Debido a que el tricloroetileno es principalmente un agente analgésico y produce solamente anestesia ligera no es aceptable como agente para eutanasia. Es carcinogénico, produce hipercapnia y es peligroso para el técnico.

4.13. Gas Cianhídrico

El gas cianhídrico bloquea la captación de oxígeno, causando dificultades respiratorias y convulsiones violentas antes de comenzar la inconsciencia y la muerte (Hatch 1982). Es además muy peligroso para el técnico. No es aceptable para la eutanasia de ningún animal.

4.14. 2-fenoxietanol

Este agente está diseñado como antibiótico para peces, pero administrado en cantidades suficientemente grandes puede matar. Las dosis deben ser altas y la muerte puede ser lenta, incrementando de ese modo el angustia en el pez. En algunos peces produce hiperactividad antes de la anestesia (Summerfelt & Smith 1990). Su descomposición química en el agua es muy lenta, lo que hace muy difícil su eliminación ya que sería peligroso para el medioambiente si se vertiese por el alcantarillado, porque puede matar a las bacterias de los sistemas de depuración de aguas residuales. No es aceptable para la eutanasia de peces.

4.15. Uretano

Se pueden colocar los animales en una solución de uretano al 1-2%. Se utiliza habitualmente como anestésico. Sin embargo, es muy carcinogénico y debido al potencial peligro para el técnico y los problemas de su eliminación segura no es aceptable (Summerfelt & Smith 1990).

4.16. Agentes bloqueantes

Neuromusculares

Bajo ninguna circunstancia se utilizaran para eutanasia agentes bloqueantes neuromusculares y otros agentes que no induzcan pérdida de consciencia previa a la muerte.

4.17. Ketamina

*La ketamina no se considera aceptable como agente único para eutanasia, ya que serían necesarios grandes volúmenes. En conejos se producen potentes convulsiones y vocalizaciones que lo hacen estéticamente inaceptable (Baneux *et al.* 1986, Reilly 1993). Puede ser aceptable usado junto con xilacina.*

4.18. Sedantes

Los sedantes no son aceptables como agentes eutanásicos debido a los enormes volúmenes que serían necesarios para producir la muerte.

4.19. Sulfato magnésico

Se ha utilizado sólo o junto con pentobarbital sódico a 80 mg/kg. Es un agente bloqueante neuromuscular y un depresor del miocardio, no un depresor del sistema nervioso central (Hatch 1982, Olfert *et al.* 1993). Se requieren grandes volúmenes y los animales pueden mostrar espasmos musculares, episodios convulsivos, vocalizaciones, respiración jadeante y defecación antes de morir (Breazile & Kitchell 1969). El animal permanece consciente hasta que el cerebro sucumbe a la anoxia anoxémica. Carece de efectos analgésicos o anestésicos y por ello *no es aceptable como agente único.*

4.20. Otros anestésicos inyectables

Se puede inducir la eutanasia con muchos otros agentes, (ejemplo: alfaxolona/alfadolona , propofol) pero debido a que estos agentes poseen un margen de seguridad relativamente amplio, se necesitarían dosis muy altas reduciendo su aceptabilidad.

4.21. Otros agentes

Otros agentes que tampoco deben usarse incluyen nicotina (que produce serios efectos colaterales antes de la muerte) y estroscina (que excita el sistema nervioso central y el animal permanece consciente y con un dolor muy intenso hasta que muere por asfixia) (Hatch 1982, Lumb 1974).

4.22. Agentes administrados por vía oral

En algunos establecimientos de cría a gran escala se han añadido agentes al agua de bebida para la eutanasia masiva de algunos animales. Existe siempre el riesgo de que algunos animales no reciban la dosis adecuada y el tiempo de actuación es generalmente lento. Estas sustancias son peligrosas para el técnico y no son aceptables para ser utilizadas como agentes eutanásicos.

4.23. Analgésicos narcóticos

Los derivados opiáceos como la morfina y la etorfina, son depresores del sistema nervioso central al igual que los analgésicos. Su sobredosis produce la muerte por depresión de los centros respiratorios en la médula. Hay una gran variabilidad de reacciones en las distintas especies: algunas enloquecen con dosis grandes de estas sustancias. Debido a que no hay mucha información acerca de cuán humanitarias son estos fármacos, *no son aceptables como agentes eutanásicos*.

ANEXO Eutanasia en especies silvestres

Es fundamental que el veterinario que practique la eutanasia en animales silvestres tenga los conocimientos y el entrenamiento necesarios para ejecutar las maniobras con el mayor profesionalismo y normas de bienestar animal requerido para cada caso.

En el caso de animales silvestres, el solo hecho de estar en contacto con gente, provoca en los mismos un estado de ansiedad, miedo y aprehensión que exigen que los operadores trabajen de manera certera, cuidando en todo momento la integridad de los animales y del equipo de trabajo.

Al seleccionar el método de eutanasia en estos animales se debe tomar en cuenta el grado de restricción de cada técnica. El trabajo calmo debe estar acompañado por una minimización de los estímulos auditivos, visuales y táctiles.

Cuando la restricción de los animales causa ansiedad o dolor, poniendo en peligro a los animales o al operador, se recomienda el uso de tranquilizantes/sedantes convenientes para cada especie (consultar bibliografía/anexo).

La ruta para administrar estas drogas deben ser cuidadosamente seleccionadas para no generar mayor estado de ansiedad en los animales.

4. RESTRICCIONES DE NECESIDADES BÁSICAS DURANTE LA EXPERIMENTACIÓN

Restricción Física

La restricción física es el uso de medios manuales o mecánicos para limitar algunos o todos los movimientos normales del animal con el propósito de examinarlo, tomar muestras, administrar medicamentos y otras manipulaciones terapéuticas o experimentales. En la mayoría de las ocasiones en que se aplica, los animales son inmovilizados por lapsos breves, generalmente minutos.

Los movimientos del animal pueden ser restringidos brevemente ya sea en forma manual o mediante aparatos de restricción, estos últimos deben ser del tamaño, diseño y operación apropiados para reducir al mínimo la incomodidad o evitar lesiones al animal. Muchos perros, primates no-humanos (ej. Reinhardt 1991, 1995), y otros animales pueden ser adiestrados a través del uso de reforzamiento positivo a presentar sus extremidades o a permanecer inmóviles para procedimientos breves.

Se debe evitar la restricción prolongada, incluyendo las sillas de inmovilización para primates no-humanos, a menos que sea esencial para lograr los objetivos de la investigación y que tenga la aprobación del CICUAL. Los sistemas menos restrictivos que no limitan la capacidad del animal para adoptar sus posturas normales, tales como los sistemas de correas para primates no-humanos y los puntales en forma de yugo para los animales de granja, deben usarse cuando sean compatibles con los objetivos del protocolo (Bryant 1980; Byrd 1979; Grandin 1991; McNamee y otros 1984; Morton y otros 1987; Wakeley y otros 1974). Cuando se usen aparatos de restricción, éstos deberán estar diseñados específicamente, para lograr las metas de la investigación que sería impráctico o imposible lograr por otro medio, y para evitar lesiones a los animales y al personal.

A continuación se enlistan importantes lineamientos para la restricción de movimiento:

- Los aparatos de restricción no deben considerarse como métodos de alojamiento normales.
- Los aparatos de restricción no deben usarse por simple conveniencia al manipular o manejar animales.
- El lapso de restricción deberá ser el mínimo requerido para alcanzar los objetivos de la investigación.
- Deberán tomarse las previsiones para observar al animal a intervalos apropiados, según lo determine el CICUAL.
- Si se observan lesiones o enfermedades asociadas con la restricción de movimiento se debe brindar atención médico veterinaria. La presencia de lesiones, enfermedades o cambios de conducta severos a menudo necesitan la remoción, temporal o permanente, del animal de la restricción.

Restricción de Líquido o Alimento

Cuando las situaciones experimentales requieran restringir la ingestión de líquido o alimento, deberán brindarse, por lo menos, las cantidades mínimas para permitir el desarrollo de los animales jóvenes y para mantener el bienestar a largo plazo de todos los animales. La restricción debida a propósitos de investigación debe estar justificada

científicamente y acompañada de un programa que verifique los parámetros fisiológicos y de conducta e incluya criterios (tales como la pérdida de peso y el estado de hidratación) para el retiro, temporal o permanente, del animal del protocolo experimental (Van Sluyters y Oberdorfer 1991). La restricción es usualmente medida como un porcentaje de la ingestión *ad libitum* o del consumo diario, o como cambio porcentual conforme al peso corporal del animal.

En el caso de limitación de líquido se deben tomar precauciones para evitar la deshidratación aguda o crónica, incluyendo el registro diario de la ingestión de líquido y el registro, por lo menos semanal, del peso corporal (NIH 1990), en animales pequeños, como los roedores, es necesario hacerlo con mayor frecuencia. Se debe prestar especial atención al aseguramiento de que los animales consuman una dieta adecuadamente balanceada (NYAS 1988), porque el consumo de alimento puede disminuir con la limitación del líquido. Se debe emplear la menor restricción que logre los objetivos científicos. En el caso de protocolos de investigación de respuesta condicionada se recomienda el reforzamiento positivo en vez de la restricción mediante, el uso de un líquido o alimento de mayor preferencia.

Múltiples Intervenciones Quirúrgicas Mayores

La cirugía mayor penetra o expone una cavidad corporal o produce un menoscabo substancial de la función física o fisiológica. La realización de varias intervenciones quirúrgicas mayores, con recuperación entre ellas, en el mismo animal no está aprobada, pero puede permitirse si el investigador la justifica científicamente y lo aprueba el CICUAL. Por ejemplo, se pueden justificar múltiples intervenciones quirúrgicas con recuperación entre ellas si son componentes relacionados de un proyecto de investigación, si al hacerlo se conservarán recursos animales escasos, (NRC 1990; también vea la nota al pie de la página 2), o si son necesarias por razones clínicas. Si se aprueban varias cirugías mayores con recuperación entre ellas, el CICUAL debe poner especial atención al bienestar del animal, a través de evaluaciones continuas de los resultados. El ahorro económico, como único criterio, no es razón suficiente para llevar a cabo múltiples intervenciones quirúrgicas mayores con recuperación entre ellas.

ANEXO RUMIANTES (Bovinos, Ovinos y Caprinos)

Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de experimentación. (Extraído de norma Oficial Mexicana)

1. Confinamiento o encierro primario.

El diseño de las instalaciones y la naturaleza de los encierros primarios utilizados para el confinamiento de los rumiantes tienen un gran impacto en su bienestar. Las condiciones para la investigación orientada a la producción muchas veces simulan y algunas veces intensifican las prácticas de producción intensiva.

Probablemente el factor más importante en el aprovisionamiento de los cuidados adecuados de los rumiantes es la actitud y preocupación por el bienestar animal por parte de los cuidadores y demás personas que atiendan a los animales.

Las corraletas y corrales no deben ser utilizadas solamente para confinar al animal, si no que también deben asegurar su comodidad y seguridad al permitirles que realicen ajustes de postura y comportamiento normales. También son de suma importancia una ventilación adecuada, libre acceso al alimento y al agua, y una observación adecuada del animal confinado. Sin importar el sistema de manejo los animales deben tener la libertad de echarse, levantarse, acicalarse de manera normal, darse la vuelta y de estirar sus patas.

2. Temperatura.

2.1 Bovinos.

Los bovinos toleran un amplio rango de temperaturas ambientales siempre y cuando estén sanos, bien alimentados no se expongan a extremos de radiación solar, humedad o vientos. Los becerros recién nacidos son más vulnerables a los extremos y las fluctuaciones de temperatura que los animales adultos. Para vacas y becerros lecheros mantenidos en sistemas cerrados, la temperatura óptima se encuentra alrededor de los 20°C con un rango aceptable entre los 10 y 25°C. Las vacas mantenidas en sistemas abiertos toleran bien temperaturas entre los 0 y 25°C, arriba de esto la alimentación y producción comienzan a afectarse y pueden sufrir un estrés fisiológico. En estos casos deben tener acceso a sombreaderos. En áreas con mucho viento o lluvia fría las barreras son de gran utilidad.

2.2 Caprinos.

La temperatura óptima en esta especie se encuentra alrededor de los 20°C con un rango aceptable entre los 10 y 25°C.

2.3 Ovinos.

La zona de confort de los ovinos se ha reportado como: para ovejas y carneros de 7-24°C, para corderos de engorda de 5-21°C y para corderos recién nacidos de 24-27°C hasta que estén secos. Se les debe proporcionar alimento adicional y protección del viento si los animales están en peligro de sufrir hipotermia, especialmente si han sido trasquilados recientemente.

3. Ventilación. Los sistemas abiertos deben construirse de tal manera que permitan el movimiento extra de aire durante el verano y el mínimo de corrientes durante el invierno.

Los olores que provienen de la rumia en, heces y orina, del ensilado y alimento echado a perder muchas veces indican la presencia de gases que pueden afectar al hombre y los animales.

4. Humedad.

4.1 Bovinos.

En alojamientos cerrados el rango de humedad recomendada va de 25 a 75%, Los niveles de 50 a 55% se consideran ideales. La zona de confort de los animales se reduce tanto en altas como en bajas temperaturas bajo condiciones de alta humedad.

4.2 Caprinos.

La humedad relativa para caprinos en confinamiento no deberá exceder el 70%.

4.3 Ovinos.

La humedad relativa preferida se considera alrededor de 60%, sin embargo, un rango de 50 a 75% es aceptable.

5. Luz.

5.1 Bovinos.

Doscientos cincuenta (250) lux se consideran adecuados en la mayoría de las situaciones donde se aloja al ganado bovino. Mientras que aproximadamente se consideran aceptables horas equivalentes de luz y oscuridad, existe evidencia que sugiere que más horas de luz aumenta la ingestión de alimento en el ganado bovino.

5.2 Caprinos.

Se recomienda una luminosidad de 220 lux. Cuando las cabras están en albergues cerrados, un área de ventana de 0.5m² por cabra puede proporcionar suficiente luz.

5.3 Ovinos.

No existen requerimientos específicos citados para ovinos. Aunque la luz natural suele ser suficiente para los ovinos, se debe proveer luz adicional durante la época de partos. Puede que se tenga que manipular el fotoperíodo para controlar la aparición de estros.

6. Cama.

Los materiales de cama utilizados dependen de la disponibilidad, costo y las necesidades. El confort y la limpieza de los animales no solo depende de la cantidad y tipo de cama, si no también en la densidad de población, tipo de alojamiento, y niveles de temperatura y humedad. En alojamientos al aire libre, la paja ayuda a minimizar la pérdida de calor en animales en climas fríos.

Si se utilizan pisos con rejillas o "slats", el ancho de las rejillas o los "slats" y el espacio entre ellos dependerá de la especie, pero debe ser tal que les proporcione un soporte adecuado y minimice el riesgo de lesiones, mientras que al mismo tiempo permita un drenaje adecuado de las excretas. Los pisos sólidos deben estar terminados de tal manera que minimicen los resbalones y así la probabilidad de lesiones y moretones.

7. Densidad de población.

Los requerimientos de espacio varían de acuerdo al tamaño y tipo de animal, tipo de alojamiento, número de animales en un grupo y nivel de manejo. El manejo debe mejorar a medida que se intensifique el sistema.

TABLA 1. Espacios mínimos para animales de experimentación en corrales

Especie y peso kg	Area mínima de piso m ²	Largo mínimo del corral m	Altura mínima entre corrales m	Area mínima de piso para grupos m ² /animal	Largo mínimo de comedero por cabeza m
<i>Ovinos</i> < 70	1,4	1,8	1,2	0,7	0,35
<i>Caprinos</i> < 70	2,0	1,8	2,0	0,8	0,40
<i>Bovinos</i> < 60	2,0	1,1	1,0	0,8	0,30
60-100	2,2	1,8	1,0	1,0	0,30
100-150	2,4	1,8	1,0	1,2	0,35
150-200	2,5	2,0	1,2	1,4	0,40
200-400	2,6	2,2	1,4	1,6	0,55
>400	2,8	2,2	1,4	1,8	0,65

TABLA 2 Espacios mínimos para animales de experimentación en corraletas individuales.

Especie y peso kg	Area mínima de corraleta m ²	Largo mínimo de corraleta m	División mínima entre corraletas m (Altura)
<i>Ovinos</i> < 70	0,7	1,0	0,9
<i>Caprinos</i> < 70	0,8	1,0	0,9
<i>Bovinos</i> 60-100	0,6	1,0	0,9
100-150	0,9	1,4	0,9
150-200	1,2	1,6	1,4
200-350	1,8	1,8	1,4
350-500	2,1	1,9	1,4
> 500	2,6	2,2	1,4

7.1 Echaderos individuales.

En el caso de bovinos productores de leche se recomienda un echadero individual por vaca, que les proporcione una cama confortable a la vez que una superficie limpia y seca. La limpieza de los pasillos debe realizarse por lo menos una vez al día.

TABLA 3. Tamaños recomendados para echaderos individuales para vacas lecheras utilizadas en experimentación.

Peso (kg)	Edad (meses)	Echadero individual (ancho x largo)
118	4	61 x 122 cm
182	6	69 x 122 cm
236	8	76 x 132 a 152 cm
327	12	86 a 91 x 152 a 168 cm
377	16	91 a 107 x 168 a 198 cm
454	20	99 x 183 cm
500	24	107 x 198 a 213 cm
545	26	114 x 208 a 213 cm
636	48	122 x 213 a 218 cm
727	60	122 x 229 cm

8. Becerros.

Si los becerros van a ser alojados en corraletas individuales, éstas deberán estar situadas y construidas de manera que el becerro pueda ver a otros becerros u otros animales. Las dimensiones de la corraleta individual deberán ser proporcionales al tamaño del animal al final de su estancia en la corraleta. El ancho deberá ser por lo menos del alto del becerro a las ancas y el largo deberá ser mayor del largo del becerro más 40 cm.

Cuando sea posible se recomienda mantener a los becerros en grupo. En Europa y Estados Unidos el uso de corraletas individuales tiende a desaparecer.

9. Jaulas Metabólicas.

El uso de las jaulas metabólicas necesariamente reduce las actividades sociales y conductuales de los animales. Por lo tanto, este procedimiento no deberá utilizarse únicamente para alojar a los animales., si no que debe reservarse para estudios metabólicos aprobados. Los animales alojados en jaulas metabólicas deberán estar bajo observación cercana durante todo el período de estudio.

9.1 Condicionamiento.

Se requiere de un período de condicionamiento de cinco a 10 días en una corraleta de piso, para "aclimatar" al animal a la nueva dieta (en caso necesario), antes de colocarlo en la jaula metabólica, seguido de tres a cuatro días de adaptación a la jaula.

9.2 Tamaño de las Jaulas Metabólicas.

Se deberá proporcionar un espacio suficiente para que el animal se eche y levante de forma normal. Algunos animales echan el cuerpo hacia delante al levantarse, por lo tanto, el largo de las jaulas deberá ser mayor que el largo del animal. El ancho de las jaulas deberá ser el suficiente para permitir que el animal se eche decúbito esternal.

9.3 Contacto con otros animales.

Muchos animales son muy sociables. Un animal aislado no está normal desde el punto de vista conductual y posiblemente metabólico. Para disminuir el estrés, las jaulas deberán diseñarse y colocarse de tal manera que haya contacto visual, auditivo y olfativo con sus compañeros.

9.4 Revisiones pre, durante y post-experimento.

Un examen físico y conductual del animal deberá realizarse antes, durante y después del experimento. Es importante que se observe a los animales antes y después de alimentarlos para asegurarse que no haya disminuido la ingestión de alimento. También se deberá observar la condición de la piel, patas y pezuñas.

9.5 Cambios de Comportamiento.

Se deberá poner atención especial a los cambios de comportamiento, que podrían indicar un grado de estrés, ansiedad o estereotipias causadas por miedo (i.e. aumento en la ingestión de agua en ovinos). Notar estos cambios es importante desde el punto de vista científico como del bienestar animal.

9.6 Duración del Confinamiento.

La falta de movilidad tiene un efecto negativo en huesos, articulaciones y músculos. Por esta razón, los animales deberán sacarse de las jaulas periódicamente para hacer ejercicio o por lo menos tres horas en un período de siete días.

Cualquier estudio que pase de 21 días en una jaula metabólica deberá justificarse, sin embargo el período total en la jaula nunca deberá exceder de 30 días.

9.7 Circunstancias Especiales.

Bajo circunstancias excepcionales (i.e. estudios de cateterización), puede que no sea fácil implementar el ejercicio semanal recomendado. En tales casos se deberá justificar por parte del investigador.

10. Salud Animal

10.1 Bovinos.

Los bovinos alimentados y alojados adecuadamente y que son atendidos adecuadamente por sus cuidadores por lo general se mantienen libres de enfermedad. Deberán estar libres de cojeras, salivación excesiva y descargas oculares y nasales. Los signos más comunes de enfermedad son: pérdida de apetito, baja en producción de leche y/o condición corporal, cese de la rumia (normalmente de 2 a 3 movimientos ruminales cada 2 minutos), temperatura corporal elevada, cojera, salivación, tos excesiva, y cambio repentino en la consistencia de las heces. Animales sanos presentan posturas, movimientos y sonidos apropiados para su edad, sexo, raza y condición fisiológica.

10.2 Ovinos y Caprinos.

Como cualquier otro animal de experimentación los signos comunes de salud son estar alertas, actividad y apetito, además de un crecimiento normal en animales jóvenes y mantenimiento de peso en animales adultos. Se deberán observar los movimientos ruminales (normalmente 3 movimientos cada 2 minutos), eructos y rumia. La presencia de enfermedad puede estar indicada por letargo e inapetencia, descargas oculares y nasales, diarrea y descargas uterinas o urinarias. Respiración anormal y tos son signos de enfermedades traqueales y pulmonares. Cambios conductuales incluyen la pérdida del orden de dominancia y, en algunas circunstancias, separarse del hato.

10.3 Las condiciones ambientales en los que estén alojados los animales deberán revisarse diariamente, El bienestar y estado de salud del animal deberá observarse con la suficiente frecuencia y cuidado para prevenir dolor, o sufrimiento y ansiedad innecesarios.

11. Cirugía.

11.1 No se deberá llevar a cabo una cirugía con fines de experimentación o enseñanza si existe otro método científicamente satisfactorio, que no lleve consigo el uso del animal, y se encuentra disponible desde el punto de vista práctico (i.e. el uso de patas para practicar cirugías de tendones, neurectomias, etc.).

11.2 Cuando se pueda elegir entre procedimientos, se deberán elegir aquéllos que utilicen el menor número de animales; causen el menor dolor, sufrimiento o daño duradero, y que sea más probable que proporcionen resultados satisfactorios. La cirugía deberá llevarse a cabo bajo anestesia general o anestesia o analgesia local. Siempre que sea posible se deberán buscar métodos alternativos a la cirugía

11.3 Al final del procedimiento se deberá decidir si el animal se debe mantener vivo o sacrificarlo por un método humanitario. Un animal no deberá mantenerse vivo, aunque se encuentre sano desde el punto de vista clínico, si es probable que continúe teniendo dolor.

11.4 Si el animal se mantendrá vivo deberá recibir el cuidado apropiado hasta recuperar la salud, bajo la supervisión de un Médico Veterinario.

11.5 No se deberá realizar más de una cirugía mayor por animal. Cirugías múltiples pueden justificarse cuando son componentes relacionados del mismo proyecto (i.e. canulación del tracto digestivo en diferentes puntos) y el investigador lo justifique como necesario desde el punto de vista científico.

11.6 En caso de realizar fistulas ruminales o esofágicas, éstas deberán taparse adecuadamente, para permitir la digestión correcta.

12. Alimento y Agua.

Excepto en casos que sea necesario debido a un protocolo de investigación en particular, los rumiantes deberán alimentarse con dietas específicamente formuladas para llenar sus requerimientos de mantenimiento, crecimiento, producción, y reproducción. Los ingredientes y las raciones terminadas deberán estar frescos y mezclarse y almacenarse adecuadamente para evitar que se echen a perder. Para asegurar su frescura los alimentos que no son consumidos deberán retirarse diariamente de los comederos, especialmente los alimentos con alto grado de humedad (i.e. ensilados).

El agua debe ser potable y estar a libre acceso.

13. Manejo y transporte.

Durante el manejo de los animales, los responsables deberán mantenerlos tranquilos, evitando los gritos, ruidos excesivos y golpes que provoquen traumatismos.

Para el arreo, nunca deberá golpearse a los animales con tubos, palos, varas con puntas de acero, látigos, instrumentos punzo-cortantes u objetos que produzcan traumatismos.

13.1 Bovinos.

El conocimiento y utilización del punto de balance y de la zona de huida son importantes durante el movimiento del ganado. El punto de balance se encuentra en el hombro del animal. El ganado se moverá hacia delante si el manejador se para detrás del punto de balance y se echaran hacia atrás si el manejador se coloca frente al punto de balance. Para el embarque se recomiendan rampas con escalones y barandales sólidos. Animales que se encuentren débiles o emaciadas no deberán ser transportados. Los bovinos deben manejarse a paso lento, especialmente si los pisos son resbalosos o en condiciones de calor y humedad.

13.2 Ovinos.

Los ovinos muestran un comportamiento gregario muy fuerte en corrales al igual que en pastoreo. El aislamiento de borregos individuales trae consigo signos de ansiedad. La separación del rebaño es la principal causa de que los ovinos traten de escapar. Los borregos tienden a seguirse unos a otros, aún en actividades como pastorear, echarse, reaccionar ante obstáculos y alimentarse. Al manejar ovinos se debe tomar ventaja de estas características y siempre manejarlos con calma. Los ovinos no deberán levantarse por los cuernos, la cabeza, las patas, la cola o el vellón.

13.3 Caprinos.

Las cabras deben manejarse con calma, ya que así estarán más dispuestas a ser conducidas. Cuando haya que movilizar cabras se debe de explotar su instinto gregario tomando en cuenta que tienden más a seguir. Se deben evitar actividades que asusten, lesionen o agiten a las cabras. Las cabras no deberán levantarse por los cuernos, la cabeza, las patas, la cola o el pelo.

Al transportar ovinos y caprinos deben tomarse en cuenta las condiciones climáticas (especialmente durante temperaturas extremas y condiciones de alta humedad) al igual que el estado productivo de los animales. Se debe evitar el transporte de ovejas y cabras durante las etapas tardías de la gestación.

13.4 Siempre que sea posible se recomienda separar a los animales en grupos más pequeños durante el transporte, utilizando separadores, para evitar amontonamientos y muertes.

14. Eutanasia.

14.1 Bovinos.

La manera más humanitaria y eficiente de matar a un bovino es el de hacerlos perder la conciencia a través de una pistola de embolo oculto y luego cortar los grandes vasos del cuello. La muerte se produce por la pérdida de sangre.

14.2 Caprinos y Ovinos.

Los caprinos y ovinos deberán sacrificarse con el uso de una pistola de embolo oculto o a través de la administración de una sobredosis de un agente anestésico y ambos procedimientos deberán ser seguidos por deguello y exsanguinación.

Bibliografía

European Convention for the Protection of Animals Kept for Farming Purposes. Strasburg, 10III,1976.

European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes. ETS no: 123.

The Canadian Council on Animal Care (CCAC) included Recommended Terms of Reference and Guidelines for Institutional Animal Care Committees in its *Guide to the Care and Use of Experimental Animals*, Vol.1, 2nd Ed. 1993

The UFAW Handbook on the Care & Management of Laboratory Animals. Edited by Trevor Poole. 6th Ed. Longman Scientific & Technical 1989

Federation of Animal Science Societies. Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Agricultural Research and Teaching. January 1^a. Ed. 1999. USA

NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.

ANEXO EQUIDOS (Caballos, Mulas y Burros)

Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de experimentación. (Extraído de norma Oficial Mexicana)

1. Confinamiento o encierro primario.

Una caballeriza bien iluminada y con acceso a un corral de ejercicio es deseable para que los caballos se mantengan en condiciones óptimas de salud y tono muscular. El alojamiento debe permitir un espacio adecuado en los pasillos para permitir el movimiento seguro de los caballos y sus cuidadores. En las caballerizas no debe existir ningún objeto saliente que pueda lastimar a los animales. Las paredes deberán ser lo suficientemente altas para prevenir las interacciones con los caballos alojados a los lados. Es importante que las puertas tengan un ancho (1.25 m) y alto (2.25 m) adecuados para facilitar el movimiento de los animales, sin riesgo ni lesiones. Los techos también deberán tener una altura adecuada, de 3 m para permitir al caballo asumir una postura normal y evitar lesiones en la cabeza. Los pisos deberán tener una superficie durable, no resbalosa. Bajo condiciones de laboratorio o en instituciones educativas, se deberá proporcionar un cuarto o 'area separada de la zona de las caballerizas para realizar procedimientos de preferencia con una manga de manejo.

2. Temperatura.

Los caballos pueden tolerar bajas temperaturas siempre y cuando exista suficiente protección de los vientos y lluvias extremas. De igual manera pueden tolerar temperaturas altas siempre y cuando se les proporcione sombra en praderas y una ventilación y humedad apropiadas en las caballerizas. Debe existir suficiente agua potable y fresca disponible en todo momento., especialmente en climas calurosos. La temperatura óptima se encuentra entre 10 y 15°C, aunque pueden tolerar de -7 a 29°C si se alojan en caballerizas secas y libres de corrientes de aire.

3. Ventilación.

La capacidad de ventilación debe ser de por lo menos 2.8 m³ /min. por 450 Kg de caballo a temperaturas de -1 a 10°C y deberá incrementarse a medida que aumente la temperatura.

4. Humedad.

La humedad relativa en alojamientos para caballos deberá estar entre 50 y 80%.

5. Luz.

La cantidad de luz deberá permitir el examen adecuado del caballo y de su caballeriza. Se debe evitar la obscuridad total, por lo que deberá existir luz artificial durante la noche. Se recomiendan por lo menos 200 lux para los pasillos y áreas de alimentación y manejo.

6. Cama.

Se debe proporcionar suficiente cama en la forma de aserrín, paja o algún otro material adecuado. Deberá existir un drenaje adecuado para evitar problemas en los cascos y que el animal se ensucie innecesariamente. El estiércol y la cama mojada deberán retirarse diariamente para mantener a los caballos limpios y secos, y el medio ambiente libre de olores. Los animales no deberán tener acceso al estercolero para evitar infestaciones de parásitos.

Se recomienda el cepillado diario, especialmente si los caballos están alojados en caballerizas que limitan sus movimiento.

7. Densidad de población.

Idealmente los caballos deberán alojarse en caballerizas individuales de por lo menos 3.5 x 3.5 m, y tener acceso a un corral de ejercicio de 10 x 27.5 m ó mayor.

Después del destete es conveniente que cada animal tenga una caballeriza separada. En el corral de ejercicio se debe mantener una separación por edad y compatibilidad.

8. Jaulas metabólicas.

Los lineamientos generales para el uso de jaulas metabólicas se encuentran en la sección de Rumiantes. De ser posible, los caballos deberán sacarse de las jaulas metabólicas diariamente, durante periodos cortos, para permitirles que hagan ejercicio y minimizar el edema de los miembros.

9. Cirugía.

Se deberán seguir los mismos lineamientos generales que se especifican para las cirugías en rumiantes puntos 10.1 a 10.4.

10. Salud Animal.

Los caballos sanos están activos, alertas y responden cuando se acerca alguien. La cabeza la traen en alto y las orejas erguidas. El pelaje está brillante y corto en el verano y grueso y suave en el invierno, especialmente si se encuentran al aire libre. Los caballos sanos comen con gusto cuando se les acerca alimento y generalmente toman agua después de comer. Defecan heces consistentes varias veces al día y orinan cada 2 a 4 horas.

En la pradera generalmente pastorean en grupo. Un animal que se separa del grupo generalmente no está bien.

Letargo, inapetencia, ausencia de heces o heces sueltas o poco formadas suelen indicar enfermedad. Los caballos con dolor sudan, especialmente en el cuello, atrás de los hombros, en los flancos y en la parte interna de los muslos. Un caballo con dolor abdominal se ve los flancos, se pateo el abdomen y se echa y rueda. Problemas en cascos son comunes y provocan claudicación en uno o más miembros. La laminitis es común y provoca un dolor intenso en los cascos que puede provocar que el caballo se eche y no se pueda levantar. Las enfermedades respiratorias provocan descargas nasales y oculares, tos y fiebre en algunos casos.

Los animales estabulados que no reciben suficiente ejercicio se aburren y como consecuencia pueden presentar ciertos problemas de comportamiento tales como: bamboleo, morder el borde del pesebre o de la puerta, tragar aire, masticar madera o caminar en círculo por la caballeriza.

11. Alimento y Agua.

11.1 Los caballos en confinamiento deben ser alimentados por lo menos dos veces al día. Cuando no tienen acceso al pastoreo se les debe proporcionar forraje en la forma de paja u otros materiales fibrosos para disminuir la incidencia de cólicos y problemas de comportamiento tales como morder la puerta o el borde del pesebre, masticar madera o comerse su cama. Los caballos deben ser alimentados para que no estén ni bajos ni altos de peso.

11.2 El agua debe estar siempre limpia y disponible a libre acceso o proporcionárselas por lo menos dos veces al día. Los requerimientos de agua dependen de varios factores, tales como la temperatura ambiental, la función del animal y la composición de la dieta. Sin embargo un caballo en general requiere de 2 a 4 L de agua por cada Kg. de materia seca. Un caballo con dieta de mantenimiento en un ambiente termoneutral puede requerir de 15 a 35 L, pero uno que está trabajando y sudando o lactando puede requerir de 50 a 80 L.

12. Manejo y Transporte.

12.1 Los caballos deben manejarse utilizando almartigones y cuerdas. Se puede obtener un mayor control pasando la cadena de la cuerda del almartigón o ronzal sobre la nariz del caballo, esto en caballos enteros. Se puede flexionar un miembro anterior (mano) para tener un mayor control. En caballos más difíciles de manejar se puede utilizar el arcial, pero siempre con cuidado y nunca por más de cinco minutos a la vez. Las barreras físicas pueden ser de gran ayuda. La inmovilización química es efectiva siempre que se administre por parte de una persona calificada. Drogas como acepromazina y xilazina son las más utilizadas. Se deben utilizar analgésicos o anestésicos en el caso de procedimientos que provoquen dolor.

12.2 Los caballos suelen ser transportados en remolques que llevan de uno a varios animales, los cuales pueden estar o no amarrados. Durante el transporte se debe tratar de minimizar los traumatismos y la ansiedad en los caballos. Se deben tomar en consideración la forma de meter al caballo al remolque, la forma de manejar el remolque, el espacio interior, el piso, la ventilación y en algunos casos protección interior. Algunas veces los caballos son transportados en grupos en camiones. En estos casos se recomienda no mezclar sexos o tamaños. Esta prohibido transportarlos en camiones de dos pisos diseñados para bovinos.

12.3 Se recomienda consultar la norma: Trato humanitario en la movilización de animales, NOM-051-ZOO-1995.

13. Eutanasia.

13.1 La eutanasia deberá realizarse utilizando pentobarbital sódico por vía intravenosa. En situaciones de emergencia un tiro al cerebro puede utilizarse siempre y cuando se realice por parte de personas entrenadas, cuidando siempre la seguridad de los humanos. Agentes paralizantes, tales como la succinilcolina, no deberán ser utilizados para la eutanasia, ni en otras operaciones.

13.2 Se recomienda consultar la norma: Sacrificio humanitario de los animales domésticos y silvestres, NOM-033-ZOO-1995.

Bibliografía

The Canadian Council on Animal Care (CCAC) included Recommended Terms of Reference and Guidelines for Institutional Animal Care Committees in its Guide to the Care and Use of Experimental Animals, Vol. 1, 2nd Ed. 1993.

The UFAW Handbook on the Care and Management of Farm Animals. Edited by Trevor Poole. 6th Ed. Longman Scientific & Technical. 1989.

Federation of Animal Science Societies. Guide to the Care and Use of Agricultural Research and Teaching. 1a. Ed. 1999. USA

ANEXO AVES (Gallinas, Pavos y Patos)

Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de experimentación (Extraído de norma Oficial Mexicana)

Confinamiento o Encierro primario.

El encierro primario no deberá poner a las aves en riesgo de ser lesionadas o exponerlos a condiciones que les causen estrés o enfermedad. Las instalaciones deben evitar que las aves escapen o queden atrapadas, mantener la calidad del aire a través de una ventilación adecuada, permitir que las aves se mantengan limpias, minimizar temperaturas extremas, evitar la acumulación innecesaria de desperdicios y proteger a las aves de la fauna nociva.

Los pollos, guajolotes y pavos pueden sufrir un ataque de pánico cuando hay cambios repentinos en su medio (por ejemplo un ave silvestre volando por la instalación o ruidos repentinos). Cuando se alojan en grupos pueden atropellarse y apilarse contra las barreras o esquinas causando gran mortalidad, por lo que cambios repentinos deben ser evitados hasta donde sea posible.

Temperatura.

La temperatura inicial en las criadoras de pollitos debe ser de 32 a 35°C. A medida que las aves crecen, la temperatura ambiental se debe reducir en 2.5°C por semana hasta llegar a los 20°C. Con el tiempo y al llegar las aves a la edad de 5-6 semanas, la temperatura ambiental deberá variar de 18 a 21°C. En gallinas de postura y de cría la temperatura óptima va entre 18 y 24°C.

Para guajolotes la temperatura inicial debe ser de 35 a 38°C, disminuyendo a razón de 3°C semanalmente hasta alcanzar los 24°C.

En patos la temperatura inicial debe ser de 26.5 a 29.5°C, disminuyendo a razón de 3.3°C semanalmente hasta alcanzar los 18 a 20°C.

Ventilación.

Todos los alojamientos para aves deberán ser ventilados adecuadamente, ya sea de manera natural o a través de aire forzado, evitando las corrientes de aire. El sistema deberá mantener la temperatura siempre por abajo de los 27°C. En la mayoría de las instalaciones, el régimen mínimo de ventilación en el verano debe ser de más o menos 12 cambios de aire por hora. El nivel de amoníaco no deberá exceder 25 ppm., ya que un nivel más alto puede perjudicar tanto el bienestar de las aves como del personal.

En instalaciones para patos es deseable una humedad relativa menor para contrarrestar el contenido de humedad en las heces.

Iluminación.

Los sistemas de iluminación varían mucho. Sin embargo, se debe utilizar una iluminación artificial controlada con un reloj automático. Los pollitos de parrilla criados en corrales

deberán recibir 35 lux de luz a nivel del piso durante las primeras 48 horas siguientes a la salida del cascarón, con un ciclo de luz de 23 horas, y un ciclo de oscuridad de 1 hora. Después de los primeros dos días, la intensidad luminosa se debe reducir a 10 lux aproximadamente a nivel de piso. Los pollos de reemplazo deben tener la misma iluminación hasta las seis semanas de edad cuando se implementan programas de iluminación restringida, reduciendo progresivamente las horas de iluminación, hasta más o menos ocho horas por día.

Para una producción óptima se debe proveer luz artificial a las gallinas de postura. Generalmente 14 horas diarias de luz blanca por día, con una intensidad luminosa de 10 lux a nivel de comederos y bebederos.

Cama.

Se prefiere una cama seca a una cama limpia, por lo que se debe tratar de evitar volcar agua a través del uso de bebederos adecuados. Se debe cuidar que no haya humedad en los corrales, pero al mismo tiempo evitar el no reducir la humedad hasta crear un problema de polvo.

Las instalaciones con pisos de alambre de 2.5 cm x 5 cm, excluyen la necesidad de cama.

Alimentos y Agua.

Los alimentos apropiados para las diferentes etapas y niveles de producción en gallinas, guajolotes, y patos son fácilmente disponibles comercialmente. Todo el alimento para patos deberá proporcionarse en forma de “pellets”, ya que las pastas tienden a acumularse en su boca. Los pellets para patitos de menos de dos semanas de edad no deberán ser mayores de .80 cm de largo y .40 cm de diámetro.

Se debe proveer siempre de agua limpia y fresca. Sin embargo, en algunos programas de restricción de alimento puede haber un sobre consumo de agua que puede llevar a heces demasiado húmedas por lo que deberá restringirse también el consumo de agua, limitándolo a ciertas horas del día. El agua también puede cortarse temporalmente previo a la administración de vacunas o medicamentos. Los bebederos deberán examinarse frecuentemente para asegurar que funcionen adecuadamente.

Densidad de Población.

Tabla 1. DIRECTRICES PARA LOS REQUERIMIENTOS MINIMOS DE ESPACIO PARA GALLINAS Y POLLOS.

			Superficie de piso/ave en cm ²
Períodos de incubación y crecimiento.			
Cercados sobre tierra		0-6 semanas	464 ^a -1116 ^b
		>6 semanas	742 ^a -2786 ^b
Jaulas ^c	Línea Ligera	0-6 semanas	97-155
		6-12 semanas	194-310
		12-20 semanas	290-348
Períodos de puesta			
Piso		Línea ligera	1625
		Línea mediana	1858
Jaula		Línea ligera	387
		Línea mediana	452
Reproductoras			
		Piso	1393 ^a -2786 ^d

Federation of Animal Science Societies.

^a Pollitas Mini-Leghorn

^b Gallos jóvenes tipo carne

^c Las jaulas deben permitir que las aves se paren

^d Tipo carne

Tabla 2. DIRECTRICES PARA LOS REQUERIMIENTOS MINIMOS DE ESPACIO PARA GUAJOLOTES (PAVOS).

			Superficie de piso/ave en cm ²
Períodos de crecimiento			
		<.3-2Kg	257-580
		3-6Kg	1419
		8-12Kg	2741
		12-16Kg	3548
Cría			
Hembras	Piso	<8Kg	2786
		8-12Kg	3715
		>12Kg	4644
Machos	Jaula	<12Kg	2694
	Piso	<12Kg	3715
		12-17Kg	4644
		>17Kg	5573
	Jaula	<20Kg	4644

Tabla 3. DIRECTRICES PARA LOS REQUERIMIENTOS MINIMOS DE ESPACIO PARA PATOS.

		Superficie de piso/ave en cm ²	
Crecimiento	Piso	Semana	
		1	232
		2	464
		3	839
		4	1116
		5	1393
		6	1671
		7	1858
	7-28	2322	
	Jaula	1	232
		2	439
		3	651
		4	974
		5	1187
6		1413	
7		1625	
Ponedoras	Piso		3251

Tabla 4. AREA MINIMA DE PISO Y DIMENSIONES EN cm² PARA AVES ENJAULADAS INDIVIDUALMENTE^a.

Especie y tipo Piso	Hembra	Piso		Dimensión	
		Macho	Hembra	Macho	
Pollos					
G. de postura	Alambre	826	929	20.3	20.3
P. de engorda	Alambre	1161	1393	25.4	30.5
Guajolotes (Pavos)					
<12Kg	Alambre	2696		45.7	
<20Kg	Sólido		4644		61.0
>20Kg	Sólido		8359		91.4
Patos					
Pekín	Alambre	1625	1625	30.5	30.5

^a Todas las jaulas deben permitir que las aves se paren derechas.

Condiciones comerciales vs. Experimentales.

Las condiciones de alojamiento, de alimentación y de manejo han sido tratadas como en la práctica comercial. La diferencia principal entre la práctica comercial y la situación experimental es que, esta última, implica muchos tratamientos diferentes y repetidos, que con frecuencia pueden requerir el uso de varios corrales pequeños o trabajar con muchos grupos pequeños. Estas aves se deben alimentar solas o en grupos y los datos recolectados para cada caso. La investigación orientada hacia la producción requiere de una aproximación de buenas prácticas comerciales de alojamiento y de manejo.

Cuando se utilizan pollos como sujetos de ensayo en investigaciones biomédicas y de comportamiento, las condiciones ambientales descritas anteriormente deberán considerarse como las normas mínimas aceptables.

Salud Animal.

Aves sanas se caracterizan por estar alertas, tener buena conformación corporal y emplumado, un peso correcto para su edad; y en caso de pie de cría por tener una buena producción de huevo, fertilidad y pollitos sanos.

Animales enfermos se caracterizan por presentar cambios en su apariencia y comportamiento. La mortalidad puede estar elevada y haber baja en la ganancia de peso, consumo de agua y alimento o una disminución repentina en la producción de huevo. La evidencia de picoteo y lesiones en la cabeza y alrededor de la cloaca suelen estar asociadas con un mal manejo, como puede ser la sobrepoblación o una mala iluminación.

Transporte.

Se recomienda consultar la norma: NOM-051-ZOO-1995.

Eutanasia.

La inyección de una sobredosis de barbitúricos puede ser un método eficaz para la eutanasia de la mayoría de las aves. Cuando se trata de grupos grandes de pollitos, la utilización de gases tales como el bióxido de carbono o argón puede ser utilizado en contenedores cerrados. Si el protocolo de investigación pide que el sacrificio sea por exanguinación, se recomienda fuertemente que las aves sean aturdidos previamente a través de un método químico (gas) o mecánico (electricidad). La dislocación cervical es también aceptable en aves en las que, por su tamaño, se pueda realizar rápida y completamente. Se recomienda consultar la norma: Sacrificio humanitario de los animales domésticos y silvestres, NOM-033-ZOO-1995.

Control de plagas.

Se deben implementar programas de control de animales nocivos (moscas, mosquitos, pulgas, piojos, garrapatas, roedores, pájaros). El control más efectivo consiste en prevenir la entrada de éstos a través de la instalación de mosquiteros y el rellenado de fisuras, manteniendo la integridad de todas las superficies y eliminando sus sitios de reproducción. En caso de utilizar pesticidas, esto deberá hacerse con mucho cuidado y sólo cuando sean necesarios, y donde los riesgos para los animales y los procesos experimentales sean mínimos.

Bibliografia

The Canadian Council on Animal Care (CCAC) included Recommended Terms of Reference and Guidelines for Institutional Animal Care Committees in its Guide to the Care and Use of Experimental Animals, Vol. 1, 2nd Ed. 1993.

Federation of Animal Science Societies. Guide for the Care and Use of Agricultural *Animals in Agricultural Research and Teaching*. January 1^a. Ed. 1999. USA

Marlene K. Halverson. Farm Animal Health and Well-Being. Minnesota Planning Agency Environmental Quality Board April 23-2001