

**UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ**

**Colegio de Ciencias de la Salud**

**Manual para el manejo del perro (*Canis lupus familiaris*) con  
fines de investigación**

**Daniela Stefanía Valdivieso Heredia**

**Medicina Veterinaria**

Trabajo de fin de carrera presentado como requisito  
para la obtención del título de  
Médico Veterinario

Quito, 18 de mayo de 2022

# **UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ**

**Colegio de Ciencias de la Salud**

## **HOJA DE CALIFICACIÓN DE TRABAJO DE FIN DE CARRERA**

**Manual para el manejo del perro (*Canis lupus familiaris*) con fines de  
investigación**

**Daniela Stefanía Valdivieso Heredia**

**Nombre del profesor, Título académico**

**Rommel Lenin Vinuesa, DMVZ, M.Sc**

Quito, 18 de mayo de 2022

## © DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en la Ley Orgánica de Educación Superior del Ecuador.

Nombres y apellidos: Daniela Stefanía Valdivieso Heredia

Código: 00203585

Cédula de identidad: 1718340654

Lugar y fecha: Quito, 18 de mayo de 2022

## **ACLARACIÓN PARA PUBLICACIÓN**

**Nota:** El presente trabajo, en su totalidad o cualquiera de sus partes, no debe ser considerado como una publicación, incluso a pesar de estar disponible sin restricciones a través de un repositorio institucional. Esta declaración se alinea con las prácticas y recomendaciones presentadas por el Committee on Publication Ethics COPE descritas por Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing, disponible en <http://bit.ly/COPETheses>.

## **UNPUBLISHED DOCUMENT**

**Note:** The following capstone project is available through Universidad San Francisco de Quito USFQ institutional repository. Nonetheless, this project – in whole or in part – should not be considered a publication. This statement follows the recommendations presented by the Committee on Publication Ethics COPE described by Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing available on <http://bit.ly/COPETheses>.

## RESUMEN

Los animales de laboratorio, particularmente el perro, ha tenido un aporte importante en el avance del conocimiento científico desde el año 1600 hasta la actualidad y continuará siendo un recurso invaluable para futuras investigaciones. Es indispensable garantizar el bienestar animal antes, durante y después del estudio. No solo por cuestiones éticas y legales, sino también porque el estrés en los animales afecta la validez de los datos del estudio. El presente trabajo tuvo como objetivo la elaboración de un manual, en el que constan recomendaciones generales del uso del perro con fines de investigación, con el propósito de servir como punto de partida para asegurar su uso y cuidado responsable. A través de buscadores bibliográficos, se recopilaron 33 trabajos publicados entre el 2010 al 2021, que incluyeron artículos científicos, libros, manuales, guías, monografías y documentos gubernamentales. En el manual se abarcan temas como el transporte de los animales al centro de investigación, las condiciones de alojamiento, la maximización de su calidad de vida y la muerte sin sufrimiento al finalizar el proyecto o la oportunidad de que los perros sean reubicados en hogares como mascotas de ser el caso. Se evidenció la necesidad de realizar más estudios acerca de protocolos de anestesia y analgesia y dietas alimenticias, específicamente para perros de laboratorio, debido a la falta de información de estos temas.

**Palabras clave:** *perro, investigación, biomédica, animal, pautas, manual, experimentación, bienestar, alojamiento, manejo.*

## ABSTRACT

Laboratory animals, particularly the dog, has made an important contribution to the progress of scientific knowledge since year 1600 to present day and will continue to be an invaluable resource for future research. It is essential to guarantee animal welfare before, during and after the study. Not only for ethical and legal reasons, but also because stress in animals affects the validity of the study data. The objective of this work was the elaboration of a manual, which contains general recommendations for the use of the dog for research purposes, which aims to be used as a starting point to ensure its responsible use and care. Through bibliographic search engines, 33 works published between 2010 and 2021 were selected, which included scientific articles, books, manuals, guides, monographs and government documents. The manual covers topics such as transporting the animals to the research center, housing conditions, maximizing their quality of life and death without suffering at the end of the project or the opportunity for the dogs to be relocated to a new home as pets if applicable. The need to carry out more studies on anesthesia and analgesia protocols and food diets, specifically for laboratory dogs, due to lack of information regarding these topics, was evidenced.

**Key words:** *dog, research, biomedical, animal, guidelines, manual, experimentation, welfare, housing, husbandry.*

## TABLA DE CONTENIDOS

<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>11</b>
<b>DESARROLLO DEL TEMA .....</b>	<b>13</b>
<b>METODOLOGÍA .....</b>	13
Búsqueda de Literatura.....	13
Criterios de Elegibilidad.....	13
Recopilación y Presentación de Datos .....	14
Manejo de Fuentes Bibliográficas.....	14
<b>RESULTADOS.....</b>	14
Características de los Estudios.....	14
Tablas y Gráficos .....	15
<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>21</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>31</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>32</b>
<b>ANEXO A: MANUAL DE PROCEDIMIENTOS.....</b>	<b>35</b>
<b>CAPÍTULO 1: GENERALIDADES DE LA ESPECIE.....</b>	35
Biología General del Perro.....	35
Manejo de Comida y Agua.....	37
Etología y Manejo de la Población.....	39
Salud Animal.....	40
<b>CAPÍTULO 2: NORMATIVA DE MANEJO.....</b>	42
Condiciones de Alojamiento .....	42
Enriquecimiento Ambiental .....	45
Temperatura, Humedad y Ventilación.....	47
Iluminación.....	48
Ruido y vibración .....	50
Sanidad e Higiene.....	51
Transporte Animal.....	54
<b>CAPÍTULO 3: PROCEDIMIENTOS EN FASE DE EXPERIMENTACIÓN ...</b>	56
Bienestar Animal .....	56
Reconocimiento del Dolor y Angustia.....	58
Anestesia y Analgesia .....	60
<b>CAPÍTULO 4: CRITERIOS DE PUNTO FINAL .....</b>	62
Eutanasia .....	62
Adopción como Mascotas .....	63

**ANEXO B: FORMA CORTA DE LA ESCALA DE DOLOR COMPUESTA DE  
GLASGOW..... 66**

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla #1.</b> Fuentes Bibliográficas en el Capítulo 1 .....	16
<b>Tabla #2.</b> Fuentes Bibliográficas en el Capítulo 2.....	18
<b>Tabla #3.</b> Fuentes Bibliográficas en el Capítulo 3.....	19
<b>Tabla #4.</b> Fuentes Bibliográficas en el Capítulo 4.....	20
<b>Tabla #5.</b> Ciclo Vital del Perro .....	35
<b>Tabla #6.</b> Valores Fisiológicos Normales en Perros .....	36
<b>Tabla #7.</b> Hematología del Perro .....	36
<b>Tabla #8.</b> Química Sanguínea del Perro.....	37
<b>Tabla #9.</b> Señales de una Buena Salud en el Perro .....	41
<b>Tabla #11.</b> Productos Químicos de Limpieza.....	53
<b>Tabla #12.</b> Agentes Anestésicos y Analgésicos para Perros de Laboratorio .....	61
<b>Tabla #13.</b> Forma Corta De La Escala De Dolor Compuesta De Glasgow .....	66

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura #1.</b> Fuentes Bibliográficas Seleccionadas .....	15
<b>Figura #2.</b> Fuentes Bibliográficas por Capítulo .....	16
<b>Figura #3.</b> Fuentes Bibliográficas por Subtema en el Capítulo 1 .....	17
<b>Figura #4.</b> Fuentes Bibliográficas por Subtema en el Capítulo 2.....	18
<b>Figura #5.</b> Fuentes Bibliográficas por Subtema en el Capítulo 3.....	19
<b>Figura #6.</b> Fuentes Bibliográficas por Subtema en el Capítulo 4.....	20
<b>Figura #7.</b> Peso Promedio de Raza Beagle .....	38
<b>Figura #8.</b> Condiciones de Alojamiento de Perros de Laboratorio .....	45

## INTRODUCCIÓN

El uso de animales de experimentación en el último siglo y medio, específicamente *Canis lupus familiaris*, (uno de los no-roedores usados con mayor frecuencia en el laboratorio desde el año 1600), ha logrado contribuciones importantes en la investigación y docencia. Entre esos está el descubrimiento de la insulina como tratamiento de la diabetes y los estudios realizados sobre la distrofia muscular de Duchenne (DMD) en la raza Golden Retriever, que ha ayudado a trabajar en mejores pruebas genéticas, así como tratamientos para esta condición. De igual manera, se ha estudiado la enfermedad de Alzheimer y el asma en Beagles y la miocardiopatía en perros de agua portugueses (Zurlo et al., 2011). Han contribuido al desarrollo de nuevas técnicas quirúrgicas como la laparoscopia, que se originó gracias al trabajo con perros en el siglo XX. Asimismo, el desarrollo de la técnica quirúrgica, que es utilizada hasta la actualidad como tratamiento de elección para reparar la Tetralogía de Fallot, fue producto de estudios realizados con perros. Dentro de la investigación biomédica, han sido utilizados para estudios cardiovasculares y sobre fisiología digestiva (Robinson et al., 2019).

Los perros pueden ser modelos experimentales para el estudio de la prevención, diagnóstico y tratamiento de enfermedades, tanto humanas como caninas. Esto último, se debe a que los humanos y los perros comparten aproximadamente más de 350 enfermedades homólogas, su fisiología y anatomía son similares, las terapias implementadas en perros pueden traducirse de forma rápida en ensayos clínicos en humanos, la esperanza de vida y el tamaño del perro están más cerca de la del humano a comparación de los ratones, entre otras características que hacen del perro un animal de experimentación útil (Nemzek et al., 2015). La raza Beagle es la más comúnmente utilizada para experimentación, al tener un tamaño conveniente y un manejo fácil, debido

a que su comportamiento es dócil y tienen una alta adaptabilidad y sociabilidad (Hänninen & Norring, 2020).

Es esencial tomar en cuenta que todo aquel que utiliza animales para la investigación, debe asumir la responsabilidad de su bienestar (National Research Council, 2011). Se creía hace décadas que se obtendrían respuestas más uniformes si se mantenía a los animales en un entorno uniforme, sin importar que este sea incómodo o inapropiado. En 1950 se descubrió que las condiciones en las cuales están los animales de experimentación están relacionadas con la variación. Es decir, si el ambiente en el que está un animal afecta su comportamiento, también afectará su fisiología (Bailey, 2017). Por lo tanto, mientras mejores sean las condiciones y el bienestar animal sea mayor, la variación será menor. Los mejores sujetos de prueba son aquellos animales que están adaptados a su entorno, a comparación de los animales que se encuentran estresados y no adaptados. Es necesario establecer un balance entre los objetivos científicos y el bienestar animal, para la obtención de datos válidos (Zurlo et al., 2011).

La información acerca del uso de animales de experimentación es escasa, lo que predispone a un incorrecto uso de animales dentro de la investigación. Por esta razón, nace la necesidad de un trabajo que pueda ser utilizado por investigadores, para poder asegurar una correcta utilización de animales como modelos experimentales. El objetivo del presente trabajo fue elaborar un manual donde se establecen recomendaciones generales del uso de *Canis lupus familiaris* con fines de investigación. Se realizó una recopilación de bibliografía a través de buscadores bibliográficos, la literatura disponible permitió la redacción del manual.

## DESARROLLO DEL TEMA

### METODOLOGÍA

Para la elaboración del trabajo, se realizó una investigación documental, en la cual se ejecutó una búsqueda sistemática de bibliografía acerca del uso de animales de experimentación. Esto permitió que, a partir de la literatura obtenida, se redacte un manual de procedimientos para el uso del perro como modelo experimental.

#### **Búsqueda de Literatura**

Se buscaron trabajos que hayan sido publicados entre el 2010 y 2021, un rango de fecha de 11 años, entre los cuales estaban incluidos libros, manuales, guías, monografías, documentos de entidades gubernamentales y artículos de revistas científicas. Se seleccionaron 5 buscadores bibliográficos: Google Académico, Elsevier, SciELO, Academia y Pubmed. Para la búsqueda de información, se usaron las siguientes palabras clave: *dog, biomedical, research, animal, guidelines, manual, experimentation, welfare, housing, husbandry*. Se buscó la información en inglés y en español, empezando por el primer idioma mencionado y posteriormente en español. Se estableció un punto de partida con 50 fuentes bibliográficas.

#### **Criterios de Elegibilidad**

Se incluyeron trabajos que cumplieron con el rango de fecha, es decir, que hayan sido publicados entre el 2010 y el 2021, de alta rigurosidad científica. Se excluyeron trabajos no publicados, guías, manuales o libros del uso de animales en la investigación que no incluían al perro como modelo experimental, tesis y trabajos que, posterior a su lectura, se halló que no contenían información acerca de los temas y subtemas seleccionados en el índice del manual.

## **Recopilación y Presentación de Datos**

Se realizó un índice, en donde se expusieron los temas y subtemas que incluye el manual, con el fin de identificar el contenido de interés que se buscó posteriormente en la bibliografía. A partir de las referencias bibliográficas obtenidas, se extrajo la información más relevante de estas en un documento en Word, el cual contenía los datos de cada fuente bibliográfica, incluyendo el título, el/los autor(es) y el año de publicación. Finalmente, se redactó un manual de procedimientos, el cual recopila dicha información.

## **Manejo de Fuentes Bibliográficas**

Se utilizó la plataforma *Mendeley*, para generar las citas y bibliografía, con normas APA de 7<sup>ma</sup> edición.

## **RESULTADOS**

### **Características de los Estudios**

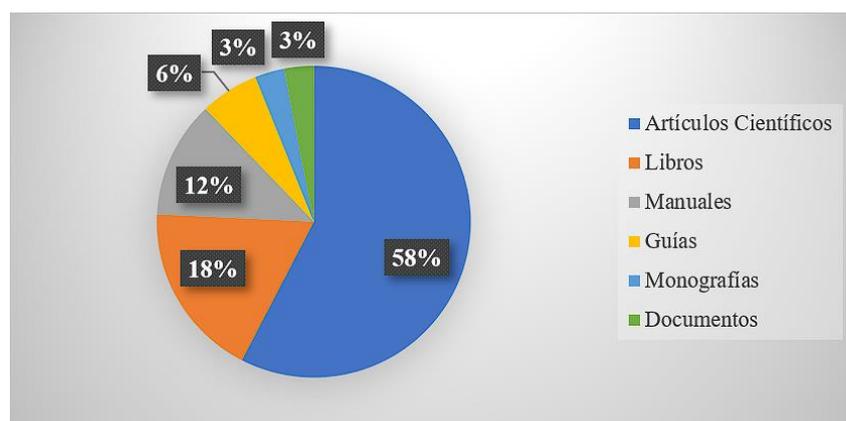
A partir de los buscadores bibliográficos, fueron recopilados 50 trabajos, de los cuales se utilizaron 33. Estos incluyeron 19 artículos científicos, 6 libros, 4 manuales, 2 guías, 1 monografía y 1 documento de entidades gubernamentales (Figura 1). Las 17 fuentes bibliográficas restantes no cumplieron con criterios de elegibilidad; 2 trabajos no incluían información acerca de los temas y subtemas del índice, 3 eran trabajos no publicados y 12 no eran trabajos publicados entre el 2010 y 2021. Por lo tanto, no fueron utilizadas para la redacción del manual. La mayor parte de la bibliografía estaba compuesta por artículos científicos, con un total del 58%, el 18% fueron libros, 12% manuales, seguido por guías con un 6%, monografías con 3% y, de igual manera, documentos con 3% (Figura 1). En los libros, manuales y guías estaban incluidos mayoritariamente trabajos acerca del uso de animales de experimentación (Hau & Schapiro, 2021; Hubrecht & Kirkwood, 2010; Hubrecht, 2014; National Research Council, 2011; Sørensen et al., 2020; Weichbrod et al., 2017). Adicionalmente, se

utilizaron libros acerca de la etología del perro (Kaminski & Marshall-Pescini, 2014; Miklosi, 2014), farmacología veterinaria (Riviere & Papich, 2018), entre otros. Se utilizó un documento de entidades gubernamentales, este conformó el 3% de la bibliografía (AGROCALIDAD, 2019).

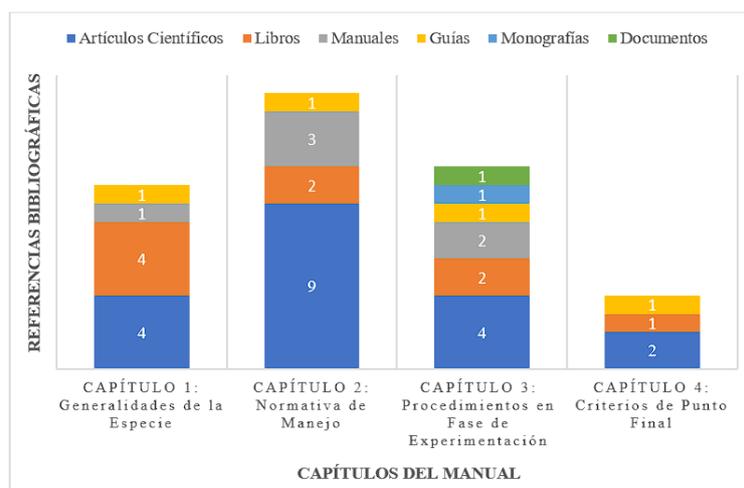
Las referencias bibliográficas seleccionadas fueron utilizadas para la redacción de un manual del uso del perro con fines de investigación. Para el capítulo 1 se utilizaron 10 fuentes bibliográficas, 15 para el capítulo 2, siendo este la sección con más fuentes, ya que abarca la mayor cantidad de subtemas (Figura 2). El capítulo 3 contiene 11 referencias bibliográficas, mientras que 4 fuentes fueron incluidas en el capítulo 4, utilizando la menor cantidad de fuentes al tener menos subcapítulos (Figura 2). Se sintetizó la información más relevante de las 33 fuentes bibliográficas, con el objetivo de establecer recomendaciones generales para el uso del perro como modelo experimental. El manual se encuentra adjunto en el Anexo A.

### Tablas y Gráficos

**Figura #1. Fuentes Bibliográficas Seleccionadas**



**Descripción.** Fuentes bibliográficas que cumplieron con los criterios de elegibilidad y fueron seleccionadas para la redacción del manual. Se encuentran representadas en porcentajes, según el tipo de trabajo.

**Figura #2. Fuentes Bibliográficas por Capítulo**

**Descripción.** División de las fuentes bibliográficas por su uso en cada capítulo y categorizadas según el tipo de trabajo.

### Capítulo 1: Generalidades de la Especie

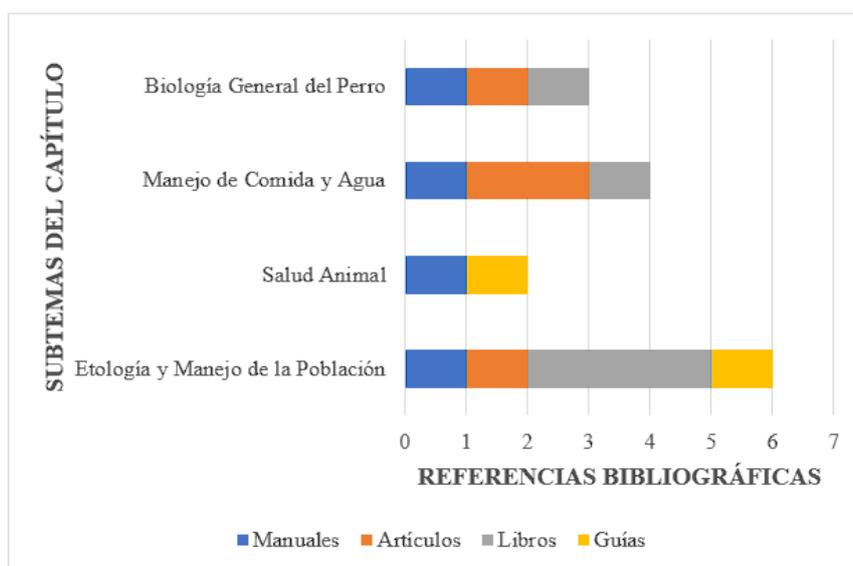
Para la redacción del capítulo 1 se utilizaron un total de 10 fuentes bibliográficas, (Tabla 1). De estas, 4 correspondieron a libros, 4 a artículos científicos, 1 a manuales y 1 a guías. En la Figura 3 se encuentra el uso de la bibliografía en cada subtema.

**Tabla #1. Fuentes Bibliográficas en el Capítulo 1**

Título	Autor	Año	Tipo de trabajo	Frecuencia de uso
The Welfare of Animals Used in Research	Hubretch	2014	Manual	+++
Longevity: Lesson from model organisms. In Genes	Taormina et al.	2019	Artículo Científico	+
Laboratory Animal Medicine: Third Edition	Nemzek et al.	2015	Libro	++
Nutritional management and disease prevention in healthy dogs and cats	Fascetti	2010	Artículo Científico	+
Basic data on the hematology, serum biochemistry, urology, and organ weights of beagle dogs	Choi et al.	2011	Artículo Científico	+
The Social Dog: Behavior and Cognition	Kaminski & Marshall-Pescini	2014	Libro	+
Dog Behaviour, Evolution, and Cognition	Miklosi	2014	Libro	+
Guide for the Care and Use of Laboratory Animals	National Research Council	2011	Guía	++
Animal-centric Care and Management	Sorensen et al.	2020	Libro	+
A novel welfare and scientific approach to conducting dog metabolism studies allowing dogs to be pair housed	Kendrick et al.	2020	Artículo Científico	+

**Descripción.** En la presente tabla se observan los datos de las fuentes bibliográficas utilizadas para la redacción del capítulo 1. La frecuencia de uso de cada fuente en el capítulo se encuentra representada con el símbolo +, siendo + un uso escaso, ++ un uso moderado y +++ un alto uso.

**Figura #3. Fuentes Bibliográficas por Subtema en el Capítulo 1**



**Descripción.** Número de fuentes bibliográficas categorizadas según el tipo de trabajo utilizadas para la redacción de cada subtema del capítulo 1.

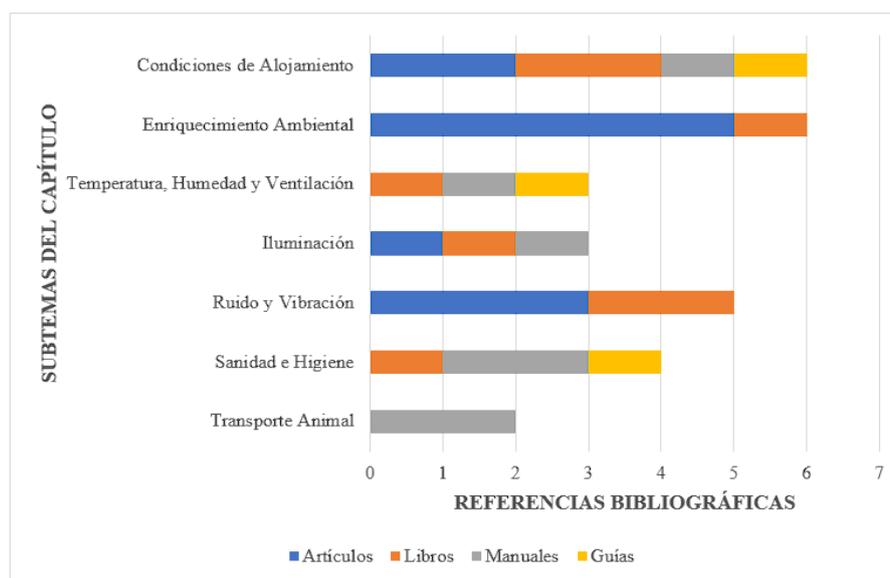
## Capítulo 2: Normativa de Manejo

En el capítulo 2 se utilizaron un total de 15 fuentes. La bibliografía incluyó 1 guía, 2 libros, 3 manuales y 9 artículos científicos (Tabla 2). La bibliografía fue dividida por subtemas (Figura 4).

**Tabla #2. Fuentes Bibliográficas en el Capítulo 2**

Título	Autor	Año	Tipo de trabajo	Frecuencia de uso
How to improve housing conditions of laboratory animals: The possibilities of environmental refinement	Baumans & Van Loo	2013	Artículo Científico	+
Management of Animal Care and Use Programs in Research, Education, and Testing (Second edition)	Weichbrod et al.	2017	Libro	+++
The Welfare of Animals Used in Research	Hubretch	2014	Manual	+++
Animal-centric Care and Management	Sorensen et al.	2020	Libro	+++
The influence of facility and home pen design on the welfare of the laboratory-housed dog	Scullion Hall et al.	2017	Artículo Científico	+++
Guide for the Care and Use of Laboratory Animals	National Research Council	2011	Guía	++
COMPANION ANIMALS SYMPOSIUM: Environmental enrichment for companion, exotic, and laboratory animals	Morris et al.	2011	Artículo Científico	+
Behavioral observations in dogs in 4 research facilities: Do they use their enrichment?	Döring et al.	2016	Artículo Científico	+
Effects of olfactory and auditory enrichment on the behaviour of shelter dogs	Amaya	2020	Artículo Científico	+
Effects of human contact and toys on the fear responses to humans of shelter-housed dogs	Conley et al.	2014	Artículo Científico	+
The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory and Other Research Animals	Hubretch & Kirkwood	2010	Manual	++
Effects of light at night on laboratory animals and research outcomes	Emmer et al.	2018	Artículo Científico	++
Comparative vibration levels perceived among species in a laboratory animal facility	Norton	2011	Artículo Científico	+
Effect of kennel noise on hearing in dogs	Scheifele et al.	2012	Artículo Científico	+
Handbook of Laboratory Animal Science	Hau & Schapiro	2021	Manual	+

**Descripción.** En la presente tabla se observan los datos de las fuentes bibliográficas utilizadas para la redacción del capítulo 2. La frecuencia de uso de cada fuente en el capítulo se encuentra representada con el símbolo +, siendo + un uso escaso, ++ un uso moderado y +++ un alto uso.

**Figura #4. Fuentes Bibliográficas por Subtema en el Capítulo 2**

**Descripción.** Número de fuentes bibliográficas categorizadas según el tipo de trabajo utilizadas para la redacción de cada subtema del capítulo 2.

### Capítulo 3: Procedimientos en Fase de Experimentación

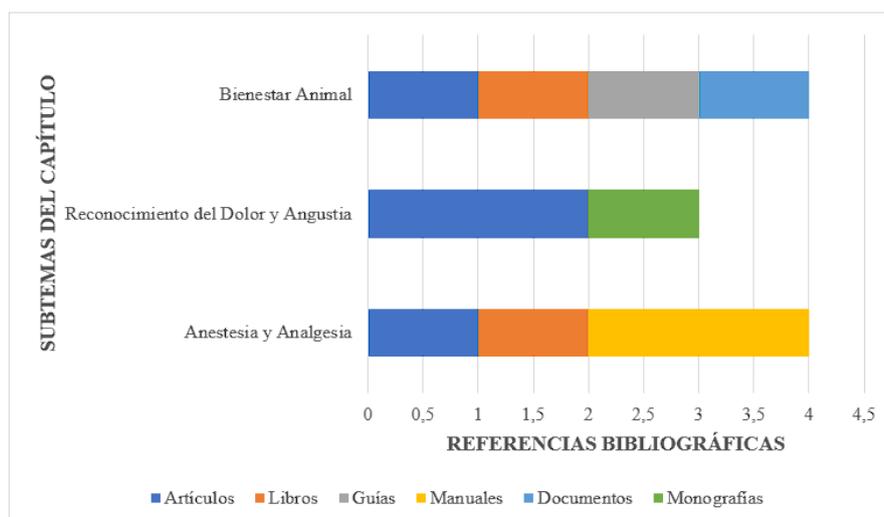
Para el capítulo 3, se utilizaron 11 fuentes bibliográficas: 4 artículos científicos, 2 libros, 2 manuales, 1 documento, 1 guía y 1 monografía. Se pueden observar los datos de la bibliografía en la Tabla 3 y su uso en cada subcapítulo en la Figura 5.

**Tabla #3. Fuentes Bibliográficas en el Capítulo 3**

Título	Autor	Año	Tipo de trabajo	Frecuencia de uso
Does the stress inherent to laboratory life and experimentation on animals adversely affect research data	Bailey	2017	Artículo Científico	+++
Animal-centric Care and Management	Sorensen et al.	2020	Libro	+
Resolución XX el Director Ejecutivo de la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoonosanitario	AGROCALIDAD	2019	Documento	++
Guide for the Care and Use of Laboratory Animals	National Research Council	2011	Guía	+
Reconocimiento y valoración del dolor en animales de experimentación	Arce et al.	2020	Monografía	+++
Review of different methods used for clinical recognition and assessment of pain in dogs and cats	Hernandez-Avalos et al.	2019	Artículo Científico	++
Creation and validation of the italian version of the Glasgow composite measure pain scale-short form (ICMPS-SF)	Della Rocca et al.	2018	Artículo Científico	+
Anesthesia protocols in laboratory animals used for scientific purposes	Cicero et al.	2018	Artículo Científico	++
The Welfare of Animals Used in Research	Hubrecht	2014	Manual	+
Manual de anestesia y analgesia de pequeños animales	Rioja et al.	2013	Manual	+
Veterinary Pharmacology and Therapeutics	Riviere & Papich	2018	Libro	+

**Descripción.** En la presente tabla se observan los datos de las fuentes bibliográficas utilizadas para la redacción del capítulo 3. La frecuencia de uso de cada fuente en el capítulo se encuentra representada con el símbolo +, siendo + un uso escaso, ++ un uso moderado y +++ un alto uso.

**Figura #5. Fuentes Bibliográficas por Subtema en el Capítulo 3**



**Descripción.** Número de fuentes bibliográficas categorizadas según el tipo de trabajo utilizadas para la redacción de cada subtema del capítulo 3.

## Capítulo 4: Criterios de Punto Final

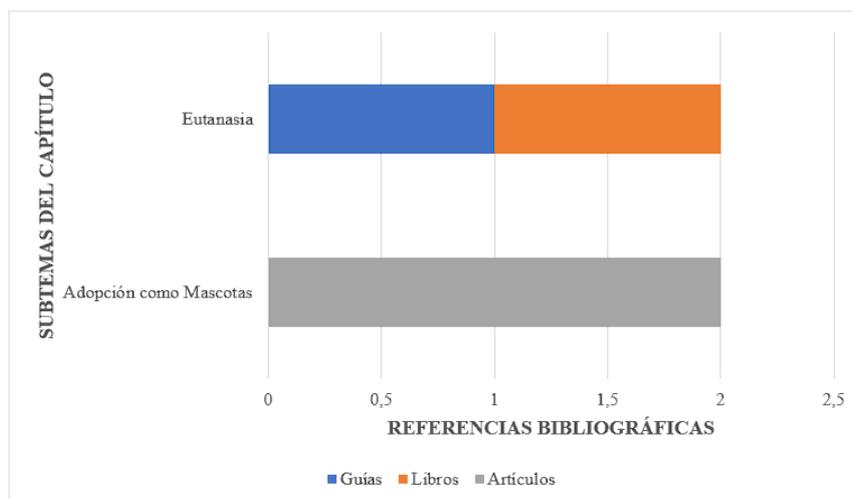
Un total de 4 referencias bibliográficas fueron utilizadas para la redacción del capítulo 4. Se incluyeron 2 artículos científicos, 1 libro y 1 guía (Tabla 4). La clasificación de las fuentes según su uso en cada subcapítulo se encuentra en la Figura 6.

**Tabla #4. Fuentes Bibliográficas en el Capítulo 4**

Título	Autor	Año	Tipo de trabajo	Frecuencia de uso
AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals	American Veterinary Medical Association	2020	Guía	+++
Veterinary Pharmacology and Therapeutics	Riviere & Papich	2018	Libro	++
The First Rehoming of Laboratory Beagles in Finland: The Complete Process from Socialization Training to Follow-up	Hänninen & Norring	2020	Artículo Científico	+++
How do rehomed laboratory beagles behave in everyday situations? Results from an observational test and a survey of new owners	Döring et al.	2017	Artículo Científico	+++

**Descripción.** En la presente tabla se observan los datos de las fuentes bibliográficas utilizadas para la redacción del capítulo 4. La frecuencia de uso de cada fuente en el capítulo se encuentra representada con el símbolo +, siendo + un uso escaso, ++ un uso moderado y +++ un alto uso.

**Figura #6. Fuentes Bibliográficas por Subtema en el Capítulo 4**



**Descripción.** Número de fuentes bibliográficas categorizadas según el tipo de trabajo utilizadas para la redacción de cada subtema del capítulo 4.

## DISCUSIÓN

Para la realización del índice, se encontraron temas en común dentro de las tablas de contenido correspondientes a 6 trabajos acerca del uso de animales de experimentación, pertenecientes a la bibliografía que se seleccionó (Hau & Schapiro, 2021; Hubrecht & Kirkwood, 2010; Hubrecht, 2014; National Research Council, 2011; Sørensen et al., 2020; Weichbrod et al., 2017). Se decidió dividir al manual en 4 capítulos: Generalidades de la Especie, Normativa de Manejo, Procedimientos en Fase de Experimentación y Criterios de Punto Final. En la primera sección, se encontraron los subtemas: Biología General del Perro, Manejo de Comida y Agua, Etología y Manejo de la Población y Salud Animal. La segunda parte del manual, titulada Normativa de Manejo, contenía los siguientes subcapítulos: Condiciones de Alojamiento, Enriquecimiento Ambiental, Temperatura, Humedad y Ventilación, Iluminación, Ruido y Vibración, Sanidad e Higiene y Transporte Animal. El capítulo 3: Procedimientos en Fase de Experimentación, incluyó: Bienestar Animal, Reconocimiento del Dolor y Angustia y Anestesia y Analgesia. Finalmente, los temas de Eutanasia y Adopción como Mascotas se incluyeron en la última sección del manual, el cual se titula Criterios de Punto Final.

Alguna información hallada en los libros dentro de la literatura seleccionada se encuentra desactualizada, por lo que los artículos científicos son utilizados para proveer información actualizada de dichos temas. Esto último explica la razón por la que existe un mayor porcentaje de artículos usados para la redacción del manual. Se seleccionó además una monografía publicada por el Instituto de Biodiversidad Agraria y Desarrollo Rural (IBADER), al ser la única literatura hallada acerca del reconocimiento y valoración del dolor enfocado en animales de experimentación; esta conformó el 3% de la bibliografía (Arce Vázquez et al., 2020).

## Capítulo 1: Generalidades de la Especie

El manual “*The Welfare of Animals Used in Research*” es el más citado en el capítulo 1, al ser un manual del uso de animales de experimentación, con un capítulo dedicado al perro. Se utilizó para el subtema de Biología General del Perro, para los valores fisiológicos normales y etapas del ciclo vital, así como en el subcapítulo de Salud Animal para describir los signos de una buena salud en esta especie. Se describe a las enfermedades como aspectos importantes en un estudio, debido a que una enfermedad, a menos que sea inducida, es una variable que afecta los resultados de una investigación (Hubretch, 2014). Las tablas de los valores fisiológicos normales, hematología, química sanguínea y peso normal del animal fueron extraídas de Nemzek (2015), al ser la única literatura encontrada que presentaba estos valores específicos de perros de laboratorio. Taormina et al. (2019) fue la fuente utilizada para describir la esperanza de vida de la especie, lo cual se encuentra dentro del subtema de Biología General del Perro.

Fascetti (2010) fue citado para el subtema de Manejo de Comida y Agua, que incluía la importancia de una dieta balanceada en una investigación científica. No obstante, no se encontró literatura que determine una dieta específica para perros de laboratorio, debido a la falta de estudios acerca de este tema. Por esta razón, el manual se enfoca en los regímenes de alimentación existentes, de los cuales se recomienda la alimentación controlada por porciones al ser el más adecuado para perros (Fascetti, 2010), así como el material recomendado para los comederos y la importancia de separar a los animales durante la alimentación (Hubretch, 2014). Para la presentación del agua, la cual debe estar disponible *ad libitum*, el requerimiento total diario de agua y la importancia de que esta sea esterilizada y desinfectada para los resultados del estudio, se citó Choi et al. (2011). Se incluyó a los autores Kaminski & Marshall-Pescini (2014) y Miklosi (2014) al ser correspondientes a libros de comportamiento del perro, utilizando la información para

el subcapítulo de Etología y Manejo de la Población. En los trabajos por Hubretch (2014) y National Research Council (2011), estaba altamente recomendado no alojar a los perros individualmente por un periodo mayor a 4 horas, debido a sus necesidades sociales. Esto último afecta su bienestar, incrementando las vocalizaciones, disminuyendo la duración del sueño y aumentando el estrés y ansiedad por separación. Por lo que Sørensen (2020) recomendó alojar a los animales en parejas o grupos pequeños estables. Esto implica, según Kendrick et al. (2020), que los cambios deben ser evadidos con excepción de ciertas situaciones, como agresión por incompatibilidad de los animales.

## **Capítulo 2: Normativa de Manejo**

En el capítulo 2 se citaron la mayor cantidad de referencias bibliográficas, debido a que, para describir las condiciones ideales en las que se debe alojar a los animales de investigación, se deben considerar varios aspectos. Estos incluyen: diseño de las instalaciones, implementación de un programa de enriquecimiento ambiental, temperatura, humedad, ventilación, iluminación, ruido, vibración y sanidad e higiene de las instalaciones. Los trabajos más utilizados para la redacción de este capítulo fueron de los siguientes autores: Weichbrod et al. (2017), Hubretch (2014), Sørensen y Scullion Hall et al (2017). De los últimos mencionados, 3 son correspondientes a trabajos del uso de animales de investigación, ya que contenía la mayoría de información relacionada con las condiciones de alojamiento para perros de laboratorio.

Baumans & Van Loo (2013) es el trabajo menos citado en el presente capítulo, estableciendo brevemente la importancia del diseño del alojamiento, al ser el lugar donde los animales pasarán la mayor parte del día. En el trabajo por Weichbrod et al. (2017), no se recomendó un alojamiento al aire libre por ser propenso a variaciones que afecten los resultados de la investigación. Por esta razón, según Hubretch (2014), se debe proporcionar alojamientos bajo techo con áreas al aire libre, para que los animales

realicen ejercicio. Sørensen et al. (2020) concordó con proveer un espacio subdividido para que las áreas de defecar, orinar, descansar, dormir y de interacción social o juego se encuentren separadas. Las dimensiones mínimas dependen del peso y cantidad de los animales, de tal manera que se requiere de habitaciones de  $0.74 m^2$  por cada perro de menos de 15 kilogramos,  $4 m^2$  para 1 a 2 animales cuyo peso sea de máximo 20 kilogramos y  $8 m^2$  para 1 a 2 animales que pesen más de 20 kilogramos. Adicionalmente, el techo debe tener una altura mínima de 2 metros (Sørensen et al., 2020).

Scullion Hall et al. (2017) argumenta sobre la separación de los corrales por paneles de vidrio, la cual ofrece beneficios como la reducción del ruido por una mayor visualización del entorno. El mismo autor sugiere plataformas elevadas, rampas, interconexión de los corrales y juguetes para fomentar al bienestar animal. En cuanto al material, Hubretch (2014) recomienda el acero inoxidable para los marcos estructurales de los corrales y vidrio reforzado para los paneles entre estos. Mientras que, para el suelo, una opción ideal son los acabados epóxicos modernos, con una capa fina de sustrato como el aserrín, para favorecer la limpieza y mantener saludables las patas y pelaje de los perros (Hubretch, 2014). Por otro lado, en la guía de National Research Council (2011), se resaltó la importancia de que el ambiente tenga la suficiente complejidad estructural para permitir a los animales esconderse en casos de agresión. Como solución, Sørensen et al. (2020) sugirió el uso de plataformas elevadas, al permitir a los perros ocultarse. Hubretch (2014) plantea el uso de plástico como el polietileno o polipropileno para el material de las camas. De la literatura hallada, el manual por el último autor mencionado proporcionó la mayor cantidad de información útil acerca del material y otras características de los recintos.

El enriquecimiento ambiental se encuentra definido por Scullion Hall et al. (2017). Entre los enriquecimientos para perros de laboratorio, se encuentran áreas al aire libre

destinadas para el ejercicio y recreación (Sørensen et al., 2020). Esta información es respaldada por Döring et al. (2016) y Scullion Hall et al. (2017). Este último autor plantea la propuesta de áreas de juego interiores, adicionales a las exteriores. Asimismo, juguetes masticables (Scullion Hall et al., 2017), plataformas elevadas o tableros bajos para áreas de descanso como un enriquecimiento permanente (Döring et al., 2016) y el alojamiento en parejas o grupos (Morris et al., 2011). También se propone enriquecimientos olfatorios con aceite esencial de lavanda y auditorios, con diferentes géneros musicales (Amaya et al., 2020). Finalmente, la interacción humana es un enriquecimiento ambiental que puede ser aplicado en perros que presentan signos de agresión por miedo (Conley et al., 2014).

Se sugiere una temperatura entre 18°C a 21°C por Hubretch & Kirkwood (2010), siendo esta información complementada por Weichbrod et al. (2017), el cual argumenta que los cambios de temperatura y temperaturas extremas afectan el bienestar animal, alterando su ingesta de alimentos, ritmos circadianos normales, rendimiento y resultados de la investigación. Se determina por Weichbrod et al. (2017) que la humedad relativa debe estar entre el 30% al 70%, evitando cambios extremos, al tener efectos similares que las fluctuaciones en la temperatura. En el libro por el mismo autor, se recomienda 10 a 15 cambios de aire por hora para una ventilación adecuada en la mayoría de los casos. Con respecto a la iluminación, se usan focos de 325 lux para el cuidado de animales (Emmer et al., 2018). Aunque la iluminación fluorescente blanca fría es la de uso tradicional, tanto Weichbrod et al. (2017) como Emmer et al. (2018) argumentan acerca de los beneficios de los diodos emisores de luz, posicionándolos como una nueva alternativa para las habitaciones de uso de animales de laboratorio. Adicionalmente, se sugiere un ciclo de 12 a 14 horas de luz diarias. Se cita el estudio realizado por Emmer et al. (2018) para argumentar acerca de los efectos de la exposición a luz nocturna y estrategias para evitar alteraciones fóticas. Aunque se resalta el impacto negativo que

tiene el ruido y la vibración por autores como Norton et al. (2011), Sørensen et al. (2020) y Scheifele et al (2012), Weichbrod et al (2017) argumenta que algunas fuentes que los producen son inherentes a centros de investigación que alojan animales. Esto último es respaldado por Scheifele et al. (2012), no obstante, no se encontró literatura que establezca pautas para reducir este problema. Por esta razón, se incluyeron recomendaciones prácticas encontradas en los trabajos por Weichbrod et al. (2017), Sørensen et al. (2020) y Scullion Hall et al (2017).

Para el subcapítulo de Sanidad e Higiene, se tomó en cuenta varios aspectos, tales como la limpieza y desinfección de las habitaciones, higiene del personal y prevención de plagas por medio del diseño de las instalaciones. Se tomaron en cuenta las recomendaciones de Weichbrod et al. (2017) para la limpieza y desinfección, que incluía trapear y lavar los suelos diariamente y una limpieza completa de la sala cada 1 a 2 semanas. Información que fue respaldada por Hubretch (2014), quien también sugería una limpieza diaria de las paredes y piso. Adicionalmente, este autor presentó el acceso a un área exterior, como estrategia para evitar la defecación en instalaciones interiores. No se encontró literatura acerca de productos químicos de limpieza y desinfección adecuados para centros de investigación que alojan animales, con la excepción de Weichbrod et al. (2017). National Research Council (2011) planteó a la higiene del personal como una medida de bioseguridad esencial para la reducción del riesgo de enfermedades ocupacionales y contaminación cruzada. Para lograr esto último, recomienda proporcionar equipo de protección, realizar una limpieza y desinfección de manos, los cambios de ropa que sean necesarios y establecer reglas como la prohibición del consumo de comida y bebidas, aplicación de maquillaje y manipulación de lentes de contacto. Por otro lado, Weichbrod et al. (2017) establece la importancia de mantener las instalaciones libres de basura, sellar las grietas de los cuartos, reducir el número de muebles al mínimo

necesario en las habitaciones y asegurarse de que el diseño de estos facilite su limpieza para evitar atraer insectos o crear sitios de anidación para estos. Adicionalmente, para evitar este problema, Hau & Schapiro (2021) sugieren el uso de lámparas de sodio de alta presión para la iluminación externa y cortinas de aire para puertas que requieren mantenerse abiertas durante períodos largos de tiempo.

El subcapítulo de Transporte Animal se centra en minimizar el estrés que implica el transporte para los animales, así como garantizar su bienestar durante cada etapa de este proceso. Se halló información acerca de este tema en los manuales de uso de animales de investigación de Hubretch & Kirkwood (2010) y Hubretch (2014). Este último autor desarrollo el presente tema más a profundidad, estableciendo algunas pautas que se deben considerar, tales como las dimensiones de la jaula, su material, entre otras características. Recomendó que se alimente al animal 2 horas previas al transporte y después cada 24 horas en adultos y 12 horas en caso de cachorros. Con respecto al agua, argumentó que se requiere proveerla en intervalos o en un contenedor a prueba de derrames en viajes largos. Sugirió al ejercicio como una buena estrategia para estimular que los animales defequen antes del transporte.

### **Capítulo 3: Procedimientos en Fase de Experimentación**

Bailey (2017) y Arce Vázquez et al. (2020) son los trabajos más utilizados en el capítulo 3. Bailey (2017) siendo citado en el subcapítulo de Bienestar Animal para argumentar acerca del estrés inherente en la vida de los animales de laboratorio, la alteración fisiológica que este provoca como el incremento de la susceptibilidad a enfermedades, la importancia de su manejo y de considerar el bienestar animal para la fiabilidad de los resultados de la investigación. El trabajo por Sørensen et al. (2020) se citó para definir el comportamiento estereotipado causado por el estrés, el cual afecta a largo plazo física, mental y fisiológicamente al perro. El documento emitido por

AGROCALIDAD es utilizado en este capítulo para describir la normativa de bienestar de animales de laboratorio vigente en el Ecuador. Esta última requiere la creación de un comité de ética y la aprobación de este, antes del inicio de todo proyecto de investigación (AGROCALIDAD, 2019). El método de las Tres R, el cual se menciona en el documento previamente mencionado, se define por medio de National Research Council (2011), siendo el autor menos citado en este capítulo.

La normativa de bienestar de animales de laboratorio en el Ecuador es ideal, debido a que, al contar con un Comité de Ética, cuya aprobación sea necesaria antes del inicio de cualquier proyecto de investigación, que vaya a utilizar a animales, se evita la realización de estudios no éticos que vulneren los derechos de los animales. Adicionalmente, el hecho que el comité se encuentre conformado por un equipo multidisciplinario, ofrece la oportunidad de que, durante la aprobación de proyectos, se los pueda evaluar desde diversas perspectivas. La normativa toma en cuenta las condiciones adecuadas de alojamiento, las cuales incluyen: comida, agua, temperatura, humedad, iluminación, ventilación y limpieza e higiene; estas son esenciales para el bienestar animal y se describen en el presente manual. Asimismo, además de requerir que se consideren las necesidades específicas de la especie, se requiere garantizar que los animales tengan las mejores condiciones de vida posibles. Es decir, no solo es necesario que se cumpla con sus necesidades, también se las debe potencializar. La normativa describe que esto debe realizarse mediante estrategias, como la implementación de un programa de enriquecimiento ambiental y un monitoreo por parte de médicos veterinarios, con experiencia en animales con fines de investigación. El principio de las Tres R tiene una alta influencia en la normativa, lo que ofrece protección a los animales, de ser utilizados en proyectos donde su uso no sea indispensable, que no tengan fines científicos, no aporten con nuevos conocimientos que sean imprescindibles para el avance

científico, cuando no se garantice el bienestar animal o se induzca dolor, sufrimiento o angustia y que no se use un número mayor de animales al mínimo requerido. De igual manera, se evita que en el proyecto se incumplan las actividades aprobadas, por medio de seguimientos realizados de forma aleatoria. Finalmente, se mantiene al personal en constante capacitación en temas de investigación biomédica, diseño experimental, ética, investigación aplicada, bienestar animal y bioestadística; esto asegura que el personal trabaje de forma proactiva para fomentar continuamente el bienestar animal.

La monografía: “Reconocimiento y valoración del dolor en animales de experimentación” (Arce Vázquez et al., 2020), se utiliza con frecuencia para el subcapítulo de reconocimiento de dolor y angustia, al ser la única literatura encontrada cuyo enfoque se centra en animales de investigación. Incluye aspectos que se consideran para identificar el dolor en perros, tales como el comportamiento, conducta alimentaria, aspecto físico y respuesta a estímulos externos. Adicionalmente, menciona la escala de dolor más utilizada: *Glasgow Composite Measure Pain Scale* (Arce Vázquez et al., 2020). La forma corta de esta escala de dolor, la cual fue diseñada para su uso en la práctica diaria, se extrajo de Della Rocca (2018) y se encuentra incluida en el Anexo B. La información del reconocimiento del dolor es complementada citando a Hernandez-Avalos et al. (2019), donde se describe detalladamente la escala de dolor de Glasgow, se mencionan los parámetros fisiológicos que se deben evaluar, como la frecuencia respiratoria y cardíaca y presión arterial, además de cambios de comportamiento y otros indicadores característicos del dolor agudo en perros.

Para el subcapítulo de Anestesia y Analgesia, se utilizan los trabajos de Cicero et al. (2018), Riviere & Papich (2018), Hubretch (2014) y Rioja et al. (2013), con los cuales se elabora una tabla de los agentes anestésicos y analgésicos que pueden usarse en perros de laboratorio. Cicero et al. (2018) analiza cómo afectan los protocolos de anestesia a los

resultados de la investigación, qué aspectos se deben considerar para una correcta anestesia y analgesia efectiva y el monitoreo postoperatorio. No obstante, en ninguna de la literatura mencionada se halla un protocolo de anestesia y analgesia diseñado para perros de laboratorio.

#### **Capítulo 4: Criterios de Punto Final**

Para el subcapítulo de Eutanasia, se utilizó la guía de “*AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals*”, al ser la guía más actual de eutanasia. Se definió este último concepto y sus objetivos y se describió el método de elección en perros, el cual es el uso de barbitúricos por vía intravenosa. También se incluye el área donde se realiza la eutanasia con sus características, el equipo que se debe disponer y la eliminación del cuerpo (American Veterinary Medical Association, 2020). Se complementó este subtema con el libro de farmacología veterinaria de Riviere & Papich (2018), que concordó con la información del libro de *American Veterinary Medical Association*, con respecto al método de eutanasia más recomendado para perros. También fue utilizado para incluir la dosis recomendada, la cual es 85 mg/kg y el sitio de inyección, que es la vena cefálica.

En caso de que la eutanasia no sea necesaria, se debe considerar la posibilidad de la reubicación en hogares para aquellos perros que sean considerados aptos. Esto tiene el objetivo de proveer a los perros una buena calidad de vida al finalizar el estudio. Se describió la respuesta o comportamiento de los perros ante este proceso gracias a las pruebas observacionales realizadas en perros Beagle de laboratorio, las cuales demostraron tener una alta tasa de éxito (Döring et al., 2017). El desarrollo de un programa de socialización previo y recomendaciones de las instalaciones para preparar desde temprano a los perros para este proceso, fue información extraída de un estudio realizado en Finlandia en el 2020. Dicho estudio también evaluó el éxito de la reubicación

de perros de laboratorio y obtuvo resultados positivos, similares al trabajo por Döring et al. (Hänninen & Norring, 2020).

## CONCLUSIONES

Se ha evidenciado que existe la suficiente literatura para la redacción de un manual de utilización del perro (*Canis lupus familiaris*) con fines de investigación. La elaboración del manual permitió compilar información básica útil y recomendaciones generales prácticas del uso del perro como modelo experimental. Entre esas, las condiciones de alojamiento que requieren los perros de investigación para garantizar su bienestar y, por lo tanto, asegurar la fiabilidad de los datos obtenidos del estudio. Tiene el propósito de servir como punto de partida para investigadores, para asegurar un cuidado y uso responsable de los animales de experimentación, aportando de esta manera a la comunidad científica del Ecuador. Es importante clarificar que un análisis exhaustivo de los temas varía según el tipo de investigación y, por lo tanto, está más allá del alcance de este manual. Se evidenció en los capítulos de “Generalidades de la Especie” y “Procedimientos en Fase de Experimentación”, que existe la necesidad de que se realicen más estudios para determinar protocolos de anestesia y analgesia, así como la elaboración de dietas, específicas para perros de laboratorio.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGROCALIDAD. (2019). *Resolución XX*. Quito.
- Amaya, V., Paterson, M. B. A., & Phillips, C. J. C. (2020). Effects of olfactory and auditory enrichment on the behaviour of shelter dogs. *Animals*, *10*(4). <https://doi.org/10.3390/ani10040581>
- American Veterinary Medical Association. (2020). *AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition*.
- Arce Vázquez, V., Puente, J. A. C., del Mar, M., Fernández, Y., Cantalapiedra, J., Anxo, Á., Figueroa, V., & García, M. C. (2020). *Reconocimiento y valoración del dolor en animales de experimentación*. IBADER
- Bailey, J. (2017). Does the stress inherent to laboratory life and experimentation on animals adversely affect research data. *Alternatives to Laboratory Animals*, *45*(6), 299–301. <https://doi.org/10.1177/026119291704500605>
- Baumans, V., & van Loo, P. L. P. (2013). How to improve housing conditions of laboratory animals: The possibilities of environmental refinement. *Veterinary Journal*, *195*(1), 24–32. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.09.023>
- Choi, S.-Y., Hwang, J.-S., Kim, I.-H., Hwang, D.-Y., & Kang, H.-G. (2011). Basic data on the hematology, serum biochemistry, urology, and organ weights of beagle dogs. *Laboratory Animal Research*, *27*(4), 283. <https://doi.org/10.5625/lar.2011.27.4.283>
- Cicero, L., Fazzotta, S., Davide, V., Cassata, G., & lo Monte, A. (2018). Anesthesia protocols in laboratory animals used for scientific purposes. *Acta Biomed*, *89*(3), 337–342.
- Conley, M. J., Fisher, A. D., & Hemsworth, P. H. (2014). Effects of human contact and toys on the fear responses to humans of shelter-housed dogs. *Applied Animal Behaviour Science*, *156*, 62–69. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2014.03.008>
- della Rocca, G., Colpo, R., Reid, J., di Salvo, A., & Marian Scott, E. (2018). Creation and validation of the italian version of the Glasgow composite measure pain scale-short form (ICMPS-SF). *Veterinaria Italiana*, *54*(3), 251–260. <https://doi.org/10.12834/VetIt.699.3421.3>
- Döring, D., Haberland, B. E., Bauer, A., Dobenecker, B., Hack, R., Schmidt, J., & Erhard, M. H. (2016). Behavioral observations in dogs in 4 research facilities: Do they use their enrichment? *Journal of Veterinary Behavior*, *13*, 55–62. <https://doi.org/10.1016/j.jveb.2016.04.002>
- Döring, D., Nick, O., Bauer, A., Küchenhoff, H., & Erhard, M. H. (2017). How do rehomed laboratory beagles behave in everyday situations? Results from an observational test and a survey of new owners. *PLOS ONE*, *12*(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181303>
- Emmer, K. M., Russart, G. K. L., Walker, W. H., Nelson, R. J., & Courtney DeVries, A. (2018). Effects of light at night on laboratory animals and research outcomes. *Behavioral Neuroscience*, *132*(4), 302–314. <https://doi.org/10.1037/bne0000252>

- Fascetti, A. J. (2010). Nutritional management and disease prevention in healthy dogs and cats. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39, 42–51.
- Hänninen, L., & Norring, M. (2020). The First Rehoming of Laboratory Beagles in Finland: The Complete Process from Socialization Training to Follow-up. *Alternatives to Laboratory Animals: ATLA*, 48(3), 116–126. <https://doi.org/10.1177/0261192920942135>
- Hau, J., & Schapiro, S. J. (2021). *Handbook of Laboratory Animal Science* (J. Hau & S. J. Schapiro, Eds.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9780429439964>
- Hernandez-Avalos, I., Mota-Rojas, D., Mora-Medina, P., Martínez-Burnes, J., Casas Alvarado, A., Verduzco-Mendoza, A., Lezama-García, K., & Olmos-Hernandez, A. (2019). Review of different methods used for clinical recognition and assessment of pain in dogs and cats. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, 7(1), 43–54. <https://doi.org/10.1080/23144599.2019.1680044>
- Hubrecht, R., & Kirkwood, J. (Eds.). (2010). *The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory and Other Research Animals*. Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781444318777>
- Hubrecht, R. (2014). *The Welfare of Animals Used in Research*. Wiley-Blackwell.
- Kaminski, J., & Marshall-Pescini, S. (2014). *The Social Dog: Behavior and Cognition*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/C2012-0-06593-3>
- Kendrick, J., Stow, R., Ibbotson, N., Adjin-Tettey, G., Murphy, B., Bailey, G., Miller, J., Helleberg, H., Finderup Grove, M., Øvlisen, K., & Hansen, J. J. (2020). A novel welfare and scientific approach to conducting dog metabolism studies allowing dogs to be pair housed. *Laboratory Animals*, 54(6), 588–598. <https://doi.org/10.1177/0023677220905330>
- Miklosi, A. (2014). *Dog Behaviour, Evolution, and Cognition*. Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780199646661.001.0001>
- Morris, C. L., Grandin, T., & Irlbeck, N. A. (2011). Environmental enrichment for companion, exotic, and laboratory animals. *Journal of Animal Science*, 89(12), 4227–4238. <https://doi.org/10.2527/jas.2010-3722>
- National Research Council. (2011). *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*. National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/12910>
- Nemzek, J. A., Lester, P. A., Wolfe, A. M., Dysko, R. C., & Myers, D. D. (2015). Biology and diseases of dogs. In *Laboratory Animal Medicine: Third Edition* (pp. 511–554). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409527-4.00012-2>
- Norton, J. N., Kinard, W. L., & Reynolds, R. P. (2011). Comparative vibration levels perceived among species in a laboratory animal facility. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 50(5), 653–659.
- Rioja, E., Salazar, V., Martínez, M., & Martínez, F. (2013). *Manual de anestesia y analgesia de pequeños animales*. SERVET.

- Riviere, J., & Papich, M. (Eds.). (2018). *Veterinary Pharmacology and Therapeutics* (Tenth edition). Wiley-Blackwell.
- Robinson, N. B., Krieger, K., Khan, F., Huffman, W., Chang, M., Naik, A., Yongle, R., Hameed, I., Krieger, K., Girardi, L. N., & Gaudino, M. (2019). The current state of animal models in research: A review. *International Journal of Surgery*, 72, 9–13. <https://doi.org/10.1016/j.ijvsu.2019.10.015>
- Scheifele, P., Martin, D., Clark, J. G., Kemper, D., & Wells, J. (2012). Effect of kennel noise on hearing in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 73(4), 482–489. <https://doi.org/10.2460/ajvr.73.4.482>
- Scullion Hall, L. E. M., Robinson, S., Finch, J., & Buchanan-Smith, H. M. (2017). The influence of facility and home pen design on the welfare of the laboratory-housed dog. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 83, 21–29. <https://doi.org/10.1016/j.vascn.2016.09.005>
- Sørensen, D. B., Cloutier, S., & Gaskill, B. N. (2020). *Animal-centric Care and Management* (D. B. Sørensen, S. Cloutier, & B. N. Gaskill, Eds.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9780429059544>
- Taormina, G., Ferrante, F., Vieni, S., Grassi, N., Russo, A., & Mirisola, M. G. (2019). Longevity: Lesson from model organisms. *Genes*, 10(7). <https://doi.org/10.3390/genes10070518>
- Weichbrod, R. H., Thompson, G. A., & Norton, J. N. (Eds.). (2017). *Management of Animal Care and Use Programs in Research, Education, and Testing* (Second edition). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781315152189>
- Zurlo, J., Bayne, K. A., Brown, D. C., Burkholder, T. H., Dellarco, V. L., Ellis, A., Garrett, L., Hubrecht, R., Janus, E. R., Kinter, L. B., Luddy, E., Meunier, L. D., Scorpio, D. G., Serpell, J. A., & Todhunter, R. J. (2011). Critical evaluation of the use of dogs in biomedical research and testing. *ALTEX: Alternativen Zu Tierexperimenten*, 28(4), 326–340. <https://doi.org/10.14573/altex.2011.4.355>

## ANEXO A: MANUAL DE PROCEDIMIENTOS

### CAPÍTULO 1: GENERALIDADES DE LA ESPECIE

#### Biología General del Perro

Las distintas etapas del ciclo vital del perro, incluyendo pubertad en hembras y machos, madurez sexual y social, alguna información acerca del ciclo reproductivo de la hembra y esperanza de vida según el tamaño de la raza se encuentran en la Tabla 5. Adicionalmente, la Tabla 6 muestra información de los valores fisiológicos normales en perros. Es importante tomar en cuenta que estos pueden variar según la edad, raza y sexo del animal. Datos acerca de la hematología y química sanguínea de perros Beagle de laboratorio se pueden observar en la Tabla 7 y 8 respectivamente.

**Tabla #5. Ciclo Vital del Perro**

Ciclo Vital	Sexo	
	Hembra	Macho
Pubertad <sup>a</sup>	Semana 8-14	Semana 7-8
Madurez Sexual <sup>a</sup>	Mes 6-9	
Madurez Social <sup>a</sup>	Mes 18-36	
Período de Gestación <sup>a</sup>	63 ± 4 días	-
Intervalo de Anestro <sup>a</sup>	7-8 meses	-
Promedio de Camadas Nacidas por Perra Anualmente <sup>a</sup>	1.3	-
Tamaño Promedio de la Camada <sup>a</sup>	6.6	-
Esperanza de Vida <sup>b</sup>	Raza	
	Pequeñas	Grandes
	Hasta 12-16 años	Hasta 6-7 años

**Descripción.** <sup>a</sup> Hubretch, 2014. <sup>b</sup> Taormina et al., 2019.

**Tabla #6. Valores Fisiológicos Normales en Perros**

Parámetros	Valores Normales
Temperatura	37.9 - 39.9°C.
Frecuencia Cardíaca	70 - 120 lpm
Frecuencia Respiratoria	18 - 34 rpm
Tiempo de Relleno Capilar	< 2 s
Presión Arterial Media	90 - 120 mmHg
pH de Sangre Arterial	7.36 - 7.46
PaO <sub>2</sub>	85 - 105 mmHg
PaCO <sub>2</sub>	30 - 44 mmHg

**Descripción.** Información acerca de los valores fisiológicos normales de un grupo de perros de ambos sexos (Nemzek et al., 2015; Hubretch, 2014).

**Tabla #7. Hematología del Perro**

Hemograma	Rango de referencia	Unidades
Hemoglobina	12.1-20.3	g/dl
Hematocrito	36-60	%
Células blancas	4.0-15.5	mil/ $\mu$ l
Células rojas	4.8-9.3	millón/ $\mu$ l
Volumen corpuscular medio	58-79	fl
Hemoglobina corpuscular media	19-28	pg
Concentración de hemoglobina corpuscular media	30-38	g/dl
Plaquetas	17-400	mil/ $\mu$ l
<b>DIFERENCIAL</b>		
Neutrófilos	3000-13000	$\mu$ l
Neutrófilos en banda	0-300	$\mu$ l
Linfocitos	530-4800	$\mu$ l
Monocitos	100-1800	$\mu$ l
Eosinófilos	0-1900	$\mu$ l
Basófilos	0-150	$\mu$ l
<b>OTROS</b>		
T4	1.0-4.0	ng/dl

**Descripción.** En la tabla se observan los datos hematológicos de perros de raza Beagle de laboratorio (Nemzek et al., 2015).

**Tabla #8. Química Sanguínea del Perro**

<b>Química sanguínea</b>	<b>Rango de referencia</b>	<b>Unidades</b>
Proteína total	5.0-7.4	g/dl
Albúmina	2.7-4.4	g/dl
Globulina	1.6-3.6	g/dl
AST	15-66	U/l
ALT	12-118	U/l
ALP	5-131	U/l
GGTP	1-12	U/l
Bilirrubina total	0.1-.03	mg/dl
BUN	6-25	mg/dl
Creatinina	0.5-1.6	mg/dl
Fósforo	2.5-6.0	mg/dl
Glucosa	70-138	mg/dl
Calcio	8.9-11.4	mg/dl
Magnesio	1.5-2.5	mEq/dl
Sodio	139-154	mEq/dl
Potasio	3.6-5.5	mEq/dl
Cloro	102-120	mEq/dl
Colesterol	92-324	mg/dl
Triglicéridos	29-291	mg/dl
Amilasa	290-1125	U/l
Lipasa	77-695	U/l
CPK	59-895	U/l

**Descripción.** Se pueden observar datos de química sanguínea de perros de raza Beagle de laboratorio (Nemzek et al., 2015).

### **Manejo de Comida y Agua**

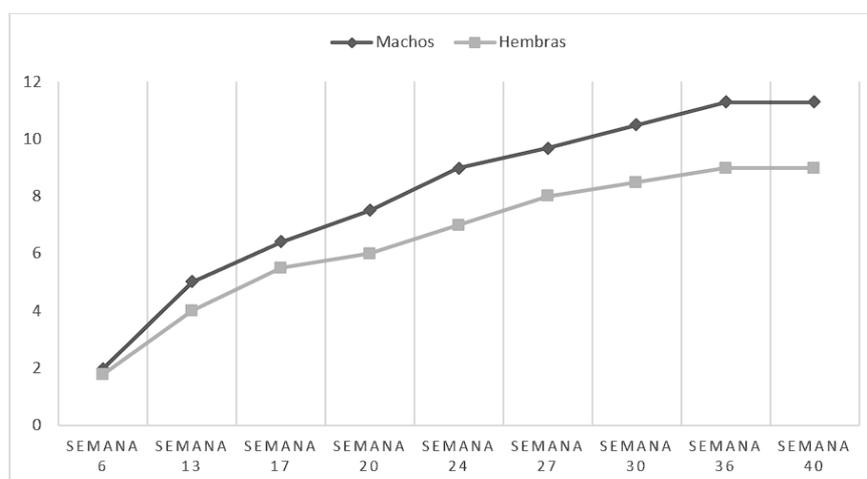
Parte esencial dentro de una investigación con modelos animales, es que estos estén satisfaciendo sus necesidades energéticas. Es fundamental que los animales tengan una dieta balanceada, que les proporcione la cantidad de nutrientes que necesitan para mantenerse sanos. Enfermedades ocasionadas por malnutrición representan factores que influyen en los resultados del estudio. El objetivo de una buena nutrición es optimizar la salud, bienestar y rendimiento del animal (Fascetti, 2010). En la Figura 7 se puede observar el peso normal según la edad en perros de raza Beagle (Nemzek et al., 2015).

Una dieta seca comercialmente preparada de manera general cubre todas las necesidades dietéticas de la mayoría de perros de laboratorio, siempre y cuando se escoja un producto que apoye la etapa de vida del animal. De preferencia, los platos de comida deben ser de acero inoxidable para evitar que los perros los mastiquen. Además, estos

deben tener una base ancha, para mantener la estabilidad mientras los perros comen (Hubretch, 2014). Existen 3 regímenes de la forma de alimentación que pueden ser aplicados: *ad libitum*, alimentación con restricción de tiempo y alimentación controlada por porciones. No obstante, se ha considerado a esta última técnica la mejor para perros. Esta consiste en darle al animal una cantidad específica de comida, que comúnmente se divide en 2 comidas al día (Fascetti, 2010). Durante la alimentación, los perros agrupados en los corrales deben ser separados para evitar agresión y que los animales subordinados no se les impida comer (Hubretch, 2014).

El agua debe ser proporcionado *ad libitum* en un bebedero automático, además de ser esterilizada y desinfectada previo a su consumo. La importancia de que el agua no contenga contaminantes radica en que los resultados del estudio no se vean influidos por esta razón (Choi et al., 2011). Se recomienda que las tuberías de los bebederos automáticos estén hechas de acero inoxidable de alta calidad, ya que esto evita la contaminación y corrosión del agua. El requerimiento total de agua diaria en un ambiente templado es de 70 a 80 ml/kg (Hubretch, 2014).

**Figura #7. Peso Promedio de Raza Beagle**



**Descripción.** Se puede observar el peso promedio en kilogramos de machos y hembras según la semana de vida del perro de raza Beagle, que es la raza más frecuentemente utilizada en el laboratorio (Nemzek et al., 2015).

## **Etología y Manejo de la Población**

La domesticación ha causado cambios tan drásticos en los perros, que se han llegado a adaptar al estilo de vida de los seres humanos. Esto ha moldeado su comportamiento y habilidades cognitivas, siendo estas últimas, en algunos sentidos, funcionalmente equivalentes al comportamiento y habilidades sociales de los humanos (Kaminski & Marshall-Pescini, 2014). De hecho, se ha llegado a considerar a los perros como los primeros modelos animales de personalidad humana (Miklosi, 2014). Los perros son animales altamente gregarios, capaces de formar grupos sociales jerárquicos estables con sus conespecíficos (Kaminski & Marshall-Pescini, 2014). Por esta razón, las interacciones sociales son esenciales para su desarrollo normal y bienestar. Esto último no solo aplica con miembros de la misma especie, también pueden beneficiarse de las interacciones positivas con humanos (National Research Council, 2011).

No obstante, se debe tomar en cuenta que no todos los miembros de una especie van a ser compatibles. Por esta razón, es necesaria la separación de animales incompatibles, ya que puede causar estrés crónico y peleas que acarreen heridas o muerte de los animales. Este riesgo se minimiza cuando se agrupa y cría juntos a los animales desde una edad joven. El enriquecimiento ambiental es un factor que también ayuda a evadir conflictos sociales. Se debe monitorear la estabilidad social para que, en casos de agresión severa o prolongada, los perros incompatibles sean separados. Asimismo, para la introducción de un nuevo individuo, se debe monitorear la interacción entre los animales durante el período introductorio (National Research Council, 2011).

Al ser animales naturalmente gregarios, alojarlos solos tiene un impacto negativo en su comportamiento, como la disminución en la duración del sueño e incremento en las tasas de vocalización. De igual manera, la privación del contacto social puede provocar estrés y ansiedad por separación. No se recomienda que los perros sean alojados solos

durante un periodo mayor a 4 horas, a menos que exista una justificación científica (Hubretch, 2014). Son animales muy activos, altamente curiosos y que disfrutan del juego, por lo que tampoco deben vivir en jaulas. El colocarlos en un entorno limitado conllevará a una disminución de su bienestar, llegando a desarrollar comportamiento estereotipado y dificultando de esta manera su manejo (Sørensen et al., 2020). El alojamiento solitario puede ser válido posterior a la anestesia o cirugía del animal o en caso de que se necesite colocarlo en cuarentena. En estos casos, se recomienda que el recinto ofrezca al animal visibilidad de los otros perros y que reciba contacto humano con regularidad (Hubretch, 2014).

Los perros compatibles deben ser alojados en parejas o grupos pequeños y estables, de hasta 4 individuos, evadiendo cambios (Sørensen et al., 2020). Esto les ofrece la oportunidad de interactuar con conespecíficos e interactuar en juegos sociales complejos. No obstante, se debe asegurar que los animales subordinados no sean privados de comida o acceso a áreas de descanso (Hubretch, 2014). El cambio de los grupos se debe realizar únicamente en caso de que los animales muestren signos de incompatibilidad, como agresión. De ser posible, se debe agrupar a los perros con un conespecífico familiar, ya que se ha demostrado que esto reduce las vocalizaciones y los parámetros hemodinámicos (Kendrick et al., 2020).

### **Salud Animal**

Se debe observar una vez al día a los perros para asegurarse de que estos no presenten signos de enfermedad, lesión u otro comportamiento anormal. En el caso de animales enfermos, animales que han pasado por un procedimiento quirúrgico o cerca de la finalización del estudio, se puede requerir que estas observaciones sean más frecuentes (National Research Council, 2011). Los perros que no tengan una buena salud no son aptos para proyectos de investigación científica, con la excepción de que la enfermedad

sea inducida para su estudio. Por esta razón, es importante que el personal esté capacitado en reconocer estos signos de que un perro tiene buena salud, los cuales se describen en la Tabla 9. Esto es importante para el bienestar del animal y para evitar la propagación de una enfermedad a los demás animales. Chequeos de salud más detallados deben realizarse con regularidad por un médico veterinario, que incluirán tratamientos profilácticos (Hubretch, 2014).

**Tabla #9. Señales de una Buena Salud en el Perro**

<b>Signo</b>	<b>Descripción</b>
Apariencia General	Animal activo, alerta, responde a estímulos externos. Se para en sus cuatro miembros de manera uniforme. Marcha no está alterada. Sin presencia de vocalizaciones.
Apetito y Peso	Apetito no se encuentra alterado. Buena condición corporal. Sin cambios repentinos en el peso o comportamiento alimenticio.
Boca	Dientes firmes y limpios. Mucosa rosada y húmeda. Ausencia de inflamación y mal olor bucal.
Ojos	Limpios, apariencia simétrica, ausencia de inflamación, descargas, irritación u opacidad de la córnea o cristalino.
Orejas	Limpias, ausencia de irritación, inflamación, descargas o mal olor.
Piel	El animal no se rasca, hay ausencia de inflamación o lesiones. Pelaje limpio y sin presencia de parásitos o caspa excesiva. Ausencia de bultos, masas o alopecia.
Respiración	Regular, sin esfuerzo después de ejercicio moderado. Ausencia de tos o descarga nasal.
Orina	Ausencia de pus o sangre. Sin dolor, esfuerzo ni frecuencia alterada de micción.
Heces	Firme y coloración marrón oscuro. Ausencia de sangre, mucosidad, dolor ni esfuerzo al defecar.

**Descripción.** (Hubretch, 2014).

## CAPÍTULO 2: NORMATIVA DE MANEJO

### Condiciones de Alojamiento

El diseño del alojamiento es crucial para el bienestar de los animales de laboratorio, al ser el lugar donde van a pasar la mayor parte de su día. A menudo, se toman en cuenta aspectos económicos y ergonómicos para el diseño, con poca o nada de consideración a las necesidades específicas de la especie, que incluyen un ambiente estimulante y complejo que ofrece interacciones sociales con conespecíficos y humanos (Baumans & Van Loo, 2013). Los alojamientos naturales o al aire libre no son recomendados, excepto para colonias reproductoras o mantener animales, hasta que se necesite su uso. Esto se debe a que son propensos a variaciones por influencias naturales, como cambios de temperatura, humedad, ciclos de luz y potenciales patógenos, lo que puede alterar los datos obtenidos en la investigación (Weichbrod et al., 2017).

Los perros de laboratorio deben ser alojados en instalaciones protegidas o bajo techo, preferentemente que dispongan de una zona al aire libre destinada como área de ejercicio, como se puede observar en la Figura 8A. Esta debe ser diseñada para proveer un ambiente estimulante a los perros, lo cual se puede lograr utilizando túneles, juguetes, rampas, un arenero o plataformas elevadas. Estas últimas permiten a los perros satisfacer su necesidad de control del entorno. El personal debe estar presente durante las actividades al aire libre para incentivar el uso de todos los recursos proporcionados y supervisar en caso de que se necesite intervención por agresión entre los animales. Asimismo, se debe facilitar el contacto humano durante los períodos de ejercicio, debido a que puede incrementar la desensibilización al personal y fomentar conductas apropiadas (Hubretch, 2014).

Perros que pesan menos de 15 kilogramos requieren un espacio de  $0.74 m^2$  por animal,  $4 m^2$  para 1 a 2 perros hasta de 20 kilogramos, con  $2 m^2$  por cada perro adicional

y  $8 m^2$  para 1 a 2 perros de más de 20 kilogramos, con  $4 m^2$  por cada perro adicional. La altura del techo debe ser mínimo de 2 metros (Sørensen et al., 2020). El espacio proporcionado debe permitir flexibilidad, se debe tomar en cuenta que son dimensiones mínimas, por lo que los perros podrían beneficiarse en recintos más grandes. Los corrales deben estar separados por paneles de vidrio, ya que mejora la visibilidad de los perros y del personal, como se observa en la Figura 8B. También se aconseja que existan puntos de salida en los corrales, además de repisas y estructuras para trepar en las áreas de juego. Las plataformas a distintas alturas destinadas como áreas de descanso, rampas, corrales interconectados, juguetes y enriquecimientos contribuyen al bienestar de los perros al permitirles tener varias opciones dentro del alojamiento, por lo que debe ser facilitado, como se observa en la Figura 8C y 8D. Particularmente señalado con una flecha en la Figura 8C, uno de los juguetes está elevado por un resorte a unos 10 a 15 centímetros del suelo, lo cual minimiza posibles problemas de agresión por posesividad o monopolización (Scullion Hall et al., 2017).

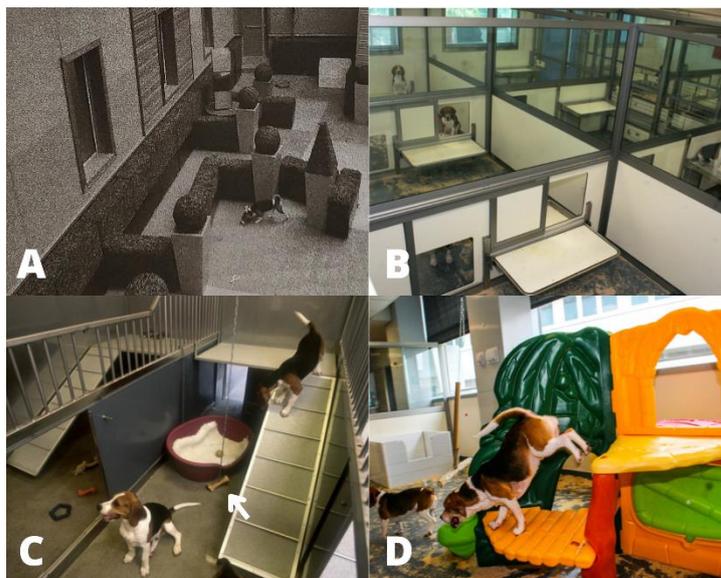
El diseño de los corrales debe permitir la separación de individuos por períodos cortos de tiempo, por ejemplo, para que los animales coman. Se recomienda colocar las camas en un área elevada del suelo, para proveer a los animales el lugar caliente y seco que requieren para dormir (Hubretch, 2014). Adicionalmente, las superficies elevadas deben ser lo suficientemente grandes para alojar varios perros, ya que se ha observado que estos las usan con frecuencia. Las ventanas de visualización de tipo emergente también se recomiendan, para permitir a los perros una mejor visualización de la habitación, como se observa en la Figura 8B (Sørensen et al., 2020). El material de las camas preferentemente debe ser plástico, como el polietileno o polipropileno. Las jaulas, aunque eran aceptadas en el pasado, no proporcionan las condiciones que cumplen con

las necesidades esenciales de los perros, en relación al espacio para locomoción, contacto social con conespecíficos y enriquecimiento ambiental (Hubretch, 2014).

El material del recinto debe ser duradero, no tóxico y facilitar la limpieza frecuente. Generalmente, el acero inoxidable es utilizado para los marcos estructurales de los corrales. Mientras que las varillas de acero inoxidable o vidrio reforzado son los materiales comúnmente utilizados en los paneles entre corrales. Se prefieren barras horizontales en los paneles de separación de corrales, ya que no crean una barrera visual. El piso debe ser sólido y antideslizante para evitar caídas y resistentes a la corrosión, grietas o astillas, para evitar lesiones. Si se instalan adecuadamente, los acabados epóxicos modernos pueden resultar ideales. Se recomienda aplicar una capa de sustrato como aserrín en pequeñas cantidades sobre el suelo sólido, ya que se ha demostrado que esto favorece la limpieza y mantiene tanto el pelaje como las patas de los perros saludables. Los pisos abiertos, ya sea perforados, rejillas o mallas son desaconsejados, ya que causan que el peso del animal se soporte en un área pequeña de la almohadilla de sus patas (Hubretch, 2014).

En general, se debe asegurar un ambiente seguro, que no permita que los animales escapen, que no tenga estructuras que puedan causar que queden atrapados por accidente o provocar lesiones, que tenga el espacio y complejidad estructural que les permita escapar y/o esconderse de otros animales en casos de agresión (National Research Council, 2011). Las plataformas elevadas permiten a los perros retirarse u ocultarse, sin embargo, deben ser diseñadas para no dificultar la observación de los animales o prácticas de manejo. Los recintos deben tener subdivisiones, que ofrezca áreas separadas para defecar y orinar, para descansar o dormir y para interacción social, como áreas de juego (Sørensen et al., 2020). Esto permite que los perros tengan patrones de comportamiento normales, lo cual minimiza encuentros agresivos (Hubretch, 2014).

**Figura #8. Condiciones de Alojamiento de Perros de Laboratorio**



**Descripción.** (A) Área de ejercicio al aire libre (Hubretch, 2014). (B) Corrales separados por paneles de vidrio (Scullion Hall et al., 2017). (C) Corrales interconectados con plataformas y juguetes como enriquecimiento. Flecha: juguete elevado del suelo (Baumans & Van Loo, 2013). (D) Áreas de juego internas permiten a los animales realizar ejercicio (Scullion Hall et al., 2017).

### **Enriquecimiento Ambiental**

El enriquecimiento ambiental se define, según argumenta Scullion Hall et al. (2017), como “la provisión de artículos u oportunidades que mejoran el bienestar de los animales en cautiverio y promueven comportamientos deseables”. Se debe considerar el tipo de enriquecimiento más adecuado para un animal, según su especie. El enfoque debe ser superar las necesidades fisiológicas, cognitivas, emocionales, sociales y emocionales de los perros, no solo satisfacerlas. Tener un espacio designado especialmente para el ejercicio y la recreación de los perros es altamente recomendado, sin embargo, si las instalaciones no incluyen una habitación para este propósito, se puede utilizar uno de los pasillos (Sørensen et al., 2020). Un enriquecimiento que proporcione a los perros de laboratorio la toma de decisiones tiene un impacto positivo, al aumentar la capacidad de homeostasis y el control de interacciones sociales (Scullion Hall et al., 2017). Es importante considerar que, si estas prácticas de enriquecimiento no se aplican

correctamente, van a resultar perjudiciales para el bienestar animal, en lugar de mejorarlo. Por esta razón, se debe procurar que el enriquecimiento sea una actividad positiva y que los estímulos no causen miedo o estrés (Sørensen et al., 2020). De igual manera, siendo un entorno de laboratorio, es fundamental que el enriquecimiento no interfiera con los resultados de investigación. Por ejemplo, evitar los enriquecimientos comestibles en estudios nutricionales (Morris et al., 2011).

Se recomienda que las instalaciones del alojamiento incluyan áreas de juego interiores y exteriores. Los perros suelen mostrar gran interés en juguetes, particularmente los que pueden masticar (Scullion Hall et al., 2017). Los perros prefieren áreas de descanso como camas, plataformas elevadas o tableros bajos donde puedan acostarse, como enriquecimiento permanente. Las utilizan con frecuencia, particularmente de noche y en grupos. Adicionalmente, al proporcionarles un área al aire libre para correr que esté disponible todo el tiempo, los animales la utilizarán como área de defecación exclusiva, lo que evidencia el deseo de los perros de defecar lejos de sus áreas de descanso (Döring et al., 2016).

El alojar perros en parejas o grupos también ha demostrado ser una práctica de enriquecimiento, causando una reducción del ruido y de comportamientos no deseados y una mayor interacción humana (Morris et al., 2011). Se pueden utilizar enriquecimientos olfatorios y auditivos, ya que reducen los niveles de excitación, de forma que los animales expuestos vocalizan menos y se encuentran más relajados. Se debe exponer a los perros a música clásica, soft rock, motown y pop durante 3 horas diarias, cambiando el género musical cada día, ya que se pueden acostumbrar si se reproduce de forma repetitiva. Como resultado, los animales pasarán más tiempo acostados. Para el enriquecimiento olfatorio, se puede utilizar aceite esencial de lavanda durante 3 horas diarias, ya que se le ha asociado con efectos sedantes y comportamientos más relajados

en varias especies, incluyendo los perros. Los animales expuestos pasarán más tiempo descansando y menos tiempo ladrando. Se recomienda aplicar la lavanda en entornos más cerrados, de esta manera puede persistir en el ambiente y los animales pueden obtener sus beneficios ansiolíticos. No obstante, el método más económico y fácil de aplicar es el enriquecimiento con música (Amaya et al., 2020).

Existe también el enriquecimiento ambiental centrado en la interacción humana, que reduce las respuestas agresivas de los perros inducidas por el miedo. Este se debe realizar durante 15 minutos, 2 veces al día durante 5 a 7 días en una habitación aislada que contenga juguetes dispersados en el piso. El experimentador debe agacharse, hablar al animal con un tono de voz suave, permitir que este olfatee su mano y ofrecer premios pequeños. La interacción puede incluir jugar con los juguetes y acariciar al animal, si este lo permite. Por el contrario, si el perro rechaza estos intentos, se le debe permitir sentarse solo en silencio hasta que el miedo disminuya. Al finalizar el tiempo, el experimentador debe levantarse en silencio y salir de la habitación (Conley et al., 2014). Un buen programa de enriquecimiento debe evolucionar constantemente en base a la evaluación de la respuesta de los perros, para evitar que la repetición de las mismas prácticas cause una habituación y aburrimiento de los animales. El objetivo de estas estrategias debe ser siempre tener un impacto positivo en la vida diaria de cada perro de laboratorio (Sørensen et al., 2020).

### **Temperatura, Humedad y Ventilación**

La ventaja de los perros es que son extremadamente adaptables en sus requerimientos de temperatura, pueden vivir en árticos y trópicos. Adicionalmente, los animales que son agrupados en corrales serán más capaces de soportar temperaturas bajas (Hubrecht & Kirkwood, 2010). No obstante, se debe evadir fluctuaciones extremas en la temperatura, ya que estas pueden causar cambios fisiológicos y de comportamiento, lo

que tiene un impacto negativo en su bienestar, rendimiento y en los resultados de la investigación (Weichbrod et al., 2017). En alojamientos bajo techo, la temperatura suele estar entre 18°C a 21°C (Hubrecht & Kirkwood, 2010). Las temperaturas extremas pueden reducir la reproducción, ingesta de alimentos, incrementar la susceptibilidad a enfermedades y alterar los ritmos circadianos normales (Weichbrod et al., 2017). Los recursos para la termorregulación deben estar disponibles, como refugios, para evitar el estrés por frío (National Research Council, 2011).

Para la mayoría de los mamíferos, se debe tener una humedad relativa del 30% al 70%. Las variaciones extremas en la humedad alteran la ingesta de alimentos, actividad normal e impiden la tasa de pérdida de calor, por lo que se debe mantener una consistencia. Por otro lado, la calidad del aire es influenciada por factores como la carga de partículas tales como polvo, gases y agentes infecciosos. Esta se controla con la ventilación, intercambiando todo el volumen del aire de la habitación con aire del exterior a una velocidad determinada por hora, lo que se denomina como los cambios de aire por hora (CAH). Esto último ayuda reduciendo la carga de calor, humedad y reemplaza el dióxido de carbono generado por los humanos y perros por oxígeno. Se recomienda de 10 a 15 CAH en la mayoría de los casos, sin embargo, es importante tomar en cuenta el número de animales, diseño de la habitación y la carga de calor (Weichbrod et al., 2017).

## **Iluminación**

Una iluminación adecuada influencia sobre la fisiología y comportamiento de los animales. Esto se debe a que alteraciones en su intensidad, ciclo o espectro pueden causar estrés y afectar el ritmo circadiano natural, lo que tiene efectos sobre el cerebro y la función corporal normal, que finalmente afecta los resultados de la investigación (Weichbrod et al., 2017). De hecho, las condiciones de iluminación pueden llegarse a considerar variables significativas en un estudio (Emmer et al., 2018). Por lo tanto, la

iluminación debe estar distribuida equitativamente y proveer la suficiente visibilidad para monitorear a los animales y garantizar que estén saludables, para realizar los procedimientos y controlar el fotoperíodo (Hubrecht & Kirkwood, 2010).

Para mantener ciclos constantes, se debe tener un control y monitoreo regular de la iluminación. Se recomienda focos de 325 lux, que se encuentren a 1 metro aproximadamente del piso. Esto resulta suficiente para el cuidado de animales y a su vez evita la retinopatía fototóxica en algunas especies, como roedores albinos (Emmer et al., 2018). La iluminación fluorescente blanca fría o de espectro completo que emiten luz natural son tradicionalmente utilizados en las instalaciones. Sin embargo, los diodos emisores de luz o LED han sido recientemente introducidos como una alternativa ecológica. Aunque resulta una opción menos económica en un principio, a largo plazo consume menos energía, tiene un funcionamiento más prolongado que los focos tradicionales y produce menos calor. Este tipo de iluminación no afecta el ritmo circadiano ni tienen efectos fototóxicos (Weichbrod et al., 2017). Adicionalmente, los LED de alta emisión azul aumentan los niveles de melatonina durante la noche (Emmer et al., 2018).

Aunque la iluminación natural es una opción, es la menos recomendada debido a que no permite un control de los fotoperíodos y pueden crear variaciones. Para animales de laboratorio se suele proporcionar un ciclo de 12 a 14 horas de luz diarias. Normalmente el fotoperíodo más implementado es de iluminación en el día y oscuridad en la noche, dado que la actividad humana ocurre durante el día (Weichbrod et al., 2017). Adicionalmente, se ha comprobado que la exposición a la luz nocturna causa la supresión de la melatonina, altera la expresión génica del reloj circadiano y la estimulación simpática, afectando de esta manera los ritmos biológicos y la fisiología del animal. Por esta razón, se deben evitar las perturbaciones fóticas, que incluyen la presencia de equipos

electrónicos en la habitación de los animales o la entrada y salida de dichas habitaciones durante la fase oscura. Se debe cubrir toda fuente de luz y evitar que esta entre por puertas o ventanas. En caso de ser necesario entrar a una habitación durante la noche, se puede utilizar bombillas que emitan luz tenue únicamente en el espectro rojo, ya que estas no alteran los ciclos circadianos. La ausencia de exposición a la luz en los lugares donde se alojan los animales durante la noche trae beneficios tanto para el bienestar animal como para los datos obtenidos de la investigación (Emmer et al., 2018).

### **Ruido y vibración**

El ruido y la vibración en una instalación de animales de laboratorio son considerados de igual manera variables dentro de un estudio, ya que pueden provocar estrés y, por lo tanto, alterar los resultados (Norton et al., 2011). Aunque perros y humanos tengan el mismo límite inferior en el rango de audición, se ha comprobado que los perros pueden percibir sonidos por encima de los 20kHz (denominados como ultrasonidos) hasta los 45kHz, los cuales no son audibles para los humanos, haciéndolos más sensibles a los estímulos auditivos (Sørensen et al., 2020). No obstante, algunas fuentes de ruido y vibración son inevitables dentro de centros de investigación con modelos animales (Weichbrod et al., 2017). Entre esas fuentes están los equipos de ventilación, ladridos, entradas y salidas del personal en las habitaciones, prácticas diarias de limpieza y manejo de los animales y reverberación por la poca capacidad de absorción de los materiales de construcción de las instalaciones. En pisos alfombrados, la reverberación es de 0.9 a 1.0 segundos, mientras que un gimnasio vacío puede tener tiempos de reverberación de 2 hasta 4 segundos (Scheifele et al., 2012). No obstante, un material como la alfombra puede dificultar la limpieza.

A pesar de que se ha hallado que el ruido en los corrales de perros puede llegar entre 85 y 222 decibeles en un día, no existen las pautas adecuadas para el manejo de

dicho ruido. Este no solo puede afectar el bienestar de los animales, sino también aumentar los niveles de estrés y perjudicar la audición de humanos (Scheifele et al., 2012). De igual manera, la vibración puede tener efectos nocivos tanto para humanos como para animales. Desde problemas gastrointestinales, dolores de cabeza y aumento de la frecuencia respiratoria en humanos, hasta efectos cardiovasculares en perros causado por la vibración de bajo nivel de todo el cuerpo (Norton et al., 2011).

Para reducir este problema se han sugerido algunas de las siguientes recomendaciones: las ruedas de equipos deben estar en buenas condiciones; se deben realizar procedimientos tales como cambios de jaula, alimentación, entre otras prácticas de la manera más silenciosa posible; el uso de las computadoras en las habitaciones con animales debe ser limitado; los artefactos de iluminación, lavadoras, sistema de ventilación y autoclave no deben provocar zumbido; las alarmas contra incendios deben emitir un sonido de menos de 400 Hertz; los criaderos de animales no deben estar junto a equipos que generen ruido y/o vibraciones; finalmente, el personal debe estar capacitado sobre los efectos de este problema y cómo minimizarlos (Weichbrod et al., 2017). El alojamiento de otras especies en proximidad de los perros no se recomienda, ya que puede provocar ruido que resulte potencialmente estresante para los perros (Sørensen et al., 2020). Se debe considerar que un factor que contribuye a los ladridos alomiméticos es la falta de visibilidad del entorno de los perros y el personal o de materiales que reduzcan el ruido y tomarlo en cuenta para el diseño de las instalaciones (Scullion Hall et al., 2017).

### **Sanidad e Higiene**

El programa de saneamiento debe incluir tanto limpieza como desinfección. El material de las superficies debe ser impermeable, lisa y poder soportar los productos de limpieza que se aplicarán frecuentemente. Deben existir implementos de limpieza diferentes para cada habitación y no deben ser compartidos entre estas para evitar la

contaminación cruzada. Se recomienda trapear y lavar los suelos diariamente, así como realizar una limpieza completa de la sala cada 1 o 2 semanas, incluyendo una desinfección de los gabinetes y accesorios. Se debe tener precaución de no rociar a los perros con productos químicos o agua durante las prácticas de higiene (Weichbrod et al., 2017). En el caso de que se use aserrín en el piso, este debe ser removido antes de la limpieza y reemplazarlo una vez que el piso esté seco. Se debe realizar una limpieza y desinfección completa de los corrales para perros. Si los animales tienen acceso frecuente o permanente a un área exterior, los perros adultos defecarán afuera y no ensuciarán el corral interior. Esta materia fecal debe ser retirada durante el día y se debe realizar una limpieza diaria de las paredes y el piso (Hubretch, 2014).

La selección de productos químicos de limpieza y desinfección se debe realizar cuidadosamente, seguir las instrucciones del fabricante al diluir el agente y determinar el tiempo de contacto necesario para una adecuada desinfección. Posterior a la aplicación de los productos, es esencial enjuagar las superficies, esto se debe a que pueden ocasionar quemaduras químicas o dermatitis a las almohadillas o piel. De igual manera, se debe evitar los olores residuales y no utilizar productos que cubren los olores, ni productos que tengan perfumes y olores en las habitaciones donde se encuentren los animales. Para la limpieza del macroambiente, se usa comúnmente los detergentes-desinfectantes combinados, se pueden observar algunos ejemplos en la Tabla 11 (Weichbrod et al., 2017).

**Tabla #10. Productos Químicos de Limpieza**

Nivel de desinfección	Descripción
Bajo	Detergentes + amonio cuaternario y/o fenólicos o yodóforos.
Alto	Combinaciones que contienen dióxido de cloro, peróxido de hidrógeno o ácido peracético.

**Descripción.** Se observan algunos detergentes-desinfectantes de diferente nivel de desinfección, donde los de nivel bajo no son efectivos contra esporas y algunos hongos o virus y de nivel alto pueden matar esporas (Weichbrod et al., 2017).

La higiene del personal es fundamental para reducir el riesgo de enfermedades ocupacionales y contaminación cruzada. Se debe proporcionar equipo de protección personal adecuado, como guantes, mascarillas, protectores faciales, zapatos o cobertores de zapatos y overoles, según sea necesario (National Research Council, 2011). Las gafas o protector facial y máscaras deben usarse particularmente cuando se realice la limpieza de las instalaciones, para protección contra agentes infecciosos, materia fecal y productos químicos (Weichbrod et al., 2017). Esta vestimenta debe ser de uso exclusivo de las instalaciones donde se alojan los animales y laboratorios. En caso de que esta se ensucie, debe ser desechada, lavada o descontaminada, dependiendo de cada caso. Una buena limpieza y desinfección de manos también es esencial, así como los cambios de ropa que sean necesarios. El consumo de tabaco, comidas y bebidas, aplicación de maquillaje y manipulación de lentes de contacto en las instalaciones de alojamiento y uso animal deben estar estrictamente prohibidos (National Research Council, 2011).

El programa de control de plagas debe tener en cuenta la prevención, control y eliminación de estas, ya que pueden transmitir enfermedades, lo cual afectaría los resultados de la investigación. El principal enfoque es sellar a los insectos y alimañas fuera de las instalaciones, para evitar sitios de escondite y anidación dentro de estas. Se recomienda mantener siempre todas las áreas libres de basura, ya que esto atrae a

cucarachas y alimañas. Todas las grietas de los cuartos deben ser selladas y los cuartos donde se alojan los animales deben tener el mínimo número necesario de muebles empotrados. Estos, a su vez, deben estar montados o sellados a la pared para eliminar potenciales lugares de escondite y permitir la limpieza entre la pared y el mueble. Aunque se debe evitar gabinetes, en ocasiones serán necesarios en las salas de procedimientos y laboratorios, por lo que deben tener un diseño que facilite su limpieza (Weichbrod et al., 2017).

En el caso de que aplique, para la iluminación externa de las instalaciones se recomienda utilizar lámparas de sodio de alta presión, para evitar la atracción de insectos (Hau & Schapiro, 2021). De igual manera, los artefactos de iluminación deben estar sellados y ser resistentes al agua para su saneamiento. La implementación de una desinfección diaria es clave para prevenir y eliminar plagas (Weichbrod et al., 2017). De ser posible, el uso de cortinas de aire con una velocidad de 490 metros por minuto también puede reducir la afluencia de insectos voladores en puertas exteriores que tienen que estar abiertas por períodos largos de tiempo. Si es necesario el control perimetral de plagas, se debe contactar a compañías de eliminación de estas (Hau & Schapiro, 2021).

### **Transporte Animal**

El transporte de animales de laboratorio puede requerirse en varias situaciones, principalmente para trasladarlos desde su lugar de origen a las instituciones donde van a ser utilizados para investigación. Inicia desde la introducción de los animales a sus contenedores, despacho al medio de transporte, el viaje, recibo, hasta el desempaque en el lugar objetivo. Se deben minimizar las fuentes de estrés, garantizar una llegada segura al destino y no poner en peligro su bienestar o salud. Asimismo, se deben conocer y tomar en cuenta las necesidades físicas, fisiológicas y etológicas de la especie. Algunos factores que comprometen esta última son el tipo de viaje, su duración, el contenedor y el ambiente

físico. Se recomienda una planeación cuidadosa para todo tipo de transporte, no obstante, ya que este involucra el retiro de los animales de un ambiente controlado a uno variable y menos controlado, es a menudo probable que algunos animales experimenten estrés o incomodidad (Hubrecht & Kirkwood, 2010).

Los animales deben pasar previamente por una habituación de su jaula, lo cual se logra colocándola en el corral de los perros. Las dimensiones de la jaula dependerán del tamaño del perro, no obstante, se recomienda de forma general que esta sea lo suficientemente grande como para que el perro pueda pararse en una postura natural, voltear y acostarse. Los mejores materiales para la jaula suelen ser la fibra de vidrio y el plástico rígido. Una puerta enrejada en un extremo de la jaula garantizará una ventilación adecuada, teniendo cuidado de que esta no permita que apéndices del animal queden afuera, como su nariz o patas. La jaula también requiere una ventilación lateral y se debe evitar la exposición prolongada a temperaturas más bajas a 7° C o más altas a 29° C. Se requiere alimentar a perros adultos 2 horas previas al transporte, tomando en cuenta que podrán transcurrir 24 horas para su siguiente comida, mientras que los cachorros necesitan ser alimentados en intervalos de 12 horas, dependiendo de su edad. Adicionalmente, se debe incentivar el ejercicio para asegurar que el animal defecue antes de entrar a la jaula. En el caso de viajes largos, se debe proveer agua en intervalos o en un contenedor a prueba de derrames (Hubretch, 2014).

### **CAPÍTULO 3: PROCEDIMIENTOS EN FASE DE EXPERIMENTACIÓN**

#### **Bienestar Animal**

La vida para los animales de laboratorio, sobre todo para aquellos que son sometidos a procedimientos invasivos, involucra inevitablemente estrés frecuente. Esto se debe a la exposición de eventos, intervenciones y entornos que no se presentan en el hábitat natural del animal. De igual manera, se excluyen ciertos comportamientos naturales. Ha sido evidenciado que el estrés puede provocar depresión, ansiedad y alterar las respuestas fisiológicas, lo que se refleja a menudo en forma de estereotipias (Bailey, 2017). Este último concepto se refiere a comportamientos repetitivos anormales, desencadenados por estrés crónico, por ejemplo, una caminata de un lado al otro. Otro mecanismo puede ser la automutilación del animal. A largo plazo, las estereotipias y otras estrategias de afrontamiento al estrés y angustia pueden perjudicar física, mental y fisiológicamente al animal (Sørensen et al., 2020). El manejo del estrés en los animales y su bienestar resulta esencial para la relevancia y fiabilidad de los datos del estudio, llegando incluso a afectar la traducción de la investigación murina en estudios humanos (Bailey, 2017).

Se ha demostrado que el estrés no solo cambia el comportamiento del animal, sino también su fisiología. Esto último se debe a los mecanismos biológicos del estrés, que causan cambios neuroendocrinos como el aumento de las hormonas del estrés séricas, lo cual tiene consecuencias para el sistema inmune, incrementando la susceptibilidad a enfermedades en los animales. Adicionalmente, puede afectar su rendimiento en pruebas de laboratorio, la respuesta a químicos tóxicos y mortalidad. El estrés en el laboratorio es inevitable, no obstante, se debe trabajar de forma proactiva para minimizarlo (Bailey, 2017).

En el Ecuador, la Resolución XX reconoce que el uso de animales en la investigación tiene un aporte importante para el bienestar de humanos y animales. Según el artículo 244 del Reglamento General de la Ley Orgánica de Sanidad Agropecuaria, las pautas para el uso de animales de experimentación que deben ser utilizadas en el Ecuador son las directrices internacionales, descritas en el Código Sanitario para los Animales Terrestres implantado por la Organización Mundial de la Sanidad Animal (OIE). La Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario es la responsable de la regulación del uso de animales de investigación. Se requiere, según el artículo 247 de dicho reglamento, que se cree un comité de ética por las instituciones o empresas que utilicen animales de laboratorio, basándose en los pautas y requerimientos de la Agencia. Este mismo artículo dicta que se necesita que todo proyecto de investigación que utilice modelos animales sea aprobado por el comité de ética. Este último debe estar conformado por un equipo multidisciplinario de 5 a 11 personas, entre las cuales esté incluido de forma obligatoria un médico veterinario, un profesional que tengan experiencia en proyectos de investigación que utilicen modelos animales y un miembro de la sociedad civil. Adicional a los perfiles mencionados, se puede incluir a expertos en cuidado animal, bioseguridad y ética, estadística, documentalistas, jurídicos y, en casos de instituciones educativas, un estudiante. En el caso de que se considere necesario, se puede contar con asesoría de consultores externos (AGROCALIDAD, 2019).

Los lineamientos mencionados toman en cuenta el método de las Tres R, el cual es una estrategia de Reemplazo, Refinamiento y Reducción. El objetivo del primer concepto es, de ser posible, sustituir a los animales con reemplazos relativos como programas de computadora, células, tejidos u órganos. El refinamiento se refiere a tomar en cuenta el bienestar animal en la cría y procedimientos experimentales, para minimizar o eliminar cualquier dolor o angustia que los animales puedan experimentar, en el caso

de que su uso sea indispensable. Finalmente, la reducción busca reducir drásticamente el número de animales utilizados a la cantidad mínima necesaria para obtener la información que se busca dentro un estudio experimental o maximizar la información obtenida de un número determinado de animales, sin perjudicar su bienestar (National Research Council, 2011).

### **Reconocimiento del Dolor y Angustia**

Existen algunos factores que se pueden tomar en cuenta para el reconocimiento de dolor en perros, entre esos se encuentra la observación del comportamiento, de la conducta alimentaria, del aspecto físico y la respuesta a estímulos externos. Con respecto a la conducta, un perro que presenta dolor puede adoptar posturas anormales, permanecer inmóvil y, en el caso de que el dolor esté localizado en los miembros, puede presentar alteraciones en la marcha. Es importante monitorear la ingesta de alimento y agua, ya que cuando esta disminuye, puede ayudar a identificar dolor. Consecuentemente, por este cambio en la conducta alimentaria, el animal puede perder peso. En la evaluación del aspecto físico, se van a observar las orejas del perro caídas, la cola entre los miembros posteriores, la cabeza baja, ojos entrecerrados y cejas arqueadas. Cuando exista manipulación del animal, la reactividad del perro también puede indicar dolor, si este presenta vocalizaciones como gemidos e intentos de alejarse. Esta reacción puede ser más intensa y llegar hasta el ataque por parte del perro, dependiendo de la intensidad del dolor. Sin embargo, es importante considerar que, en ciertas ocasiones, el perro que está experimentando dolor puede adoptar un comportamiento sumiso y huidizo (Arce Vázquez et al., 2020).

Adicionalmente, al evaluar la frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria y presión arterial, se puede hallar un aumento de estas en el caso de que el animal esté experimentando dolor. El diámetro pupilar también puede verse alterado, se sugiere

observar la presencia de midriasis. No obstante, se debe considerar que una evaluación del dolor precisa no debe basarse en un solo parámetro fisiológico. Otros cambios de comportamiento incluyen letargo, automutilación, interacción social disminuida, falta de interés del entorno, alteración del sueño e inquietud, los cuales son respuestas a estímulos nocivos. En perros, la agresión, depresión, anorexia, resistencia a moverse y lamidas en el área afectada son indicadores característicos del dolor agudo. A medida que la intensidad del dolor aumenta, se observan vocalizaciones, deambulación, la producción de lágrimas aumenta y hay un constante contacto del animal con la zona afectada (Hernandez-Avalos et al., 2019).

Existen pruebas complementarias para la evaluación de la presencia de dolor, donde se busca dilatación pupilar, un aumento en la sudoración y temperatura y una alteración en la diuresis. No obstante, estas no suelen resultar útiles debido a que los signos previamente mencionados son inespecíficos y pueden estar presentes por varias razones. De igual manera, se ha utilizado escalas de dolor, siendo *Glasgow Composite Measure Pain Scale* (CMPS) la más utilizada, debido a su buen nivel de precisión (Arce Vázquez et al., 2020). Esta última es una escala multidimensional, es decir, evalúa tanto constantes fisiológicas como comportamentales. No obstante, al igual que otras escalas, tiene cierto nivel de subjetividad y tiene una replicabilidad limitada. Consiste en un cuestionario estructurado, el cual lo llena una persona posterior a un protocolo que está diseñado para evaluar comportamiento del animal y reacciones hacia las personas, postura, movilidad, actividad, respuesta a la auscultación, tratamiento de la zona afectada y vocalizaciones. Para que esta escala pueda sea utilizada en la práctica diaria, se creó una forma simplificada llamada *Short Form of the Glasgow Composite Measuring Pain Scale* (SF-CMPS), la cual se encuentra en el Anexo B (Hernandez-Avalos et al., 2019).

## **Anestesia y Analgesia**

Los protocolos de anestesia pueden afectar enormemente los resultados de la investigación. Esto se debe a que los fármacos utilizados comúnmente en los protocolos anestésicos presentes en la literatura pueden causar varios efectos secundarios, que pueden alterar el éxito del estudio y a la vez perjudicar el modelo animal. Una correcta anestesia, una analgesia efectiva, la duración del procedimiento experimental y un correcto protocolo de intubación endotraqueal, son los aspectos relevantes que deben tomarse en cuenta, para garantizar un correcto manejo del ensayo. El monitoreo continuo post-anestesia es esencial en la recuperación de los animales, para controlar los efectos secundarios y asegurarse que estos estén comiendo, bebiendo agua, defecando y orinando normalmente. Se debe monitorear la frecuencia cardíaca, temperatura, concentración de gases y electrolitos en sangre y observar las respuestas reflejas. Aunque existe una gran necesidad de pautas específicas para la anestesia y analgesia para garantizar la comparabilidad y la calidad de los experimentos con animales, no existe un protocolo para perros de laboratorio (Cicero et al., 2018). En la tabla 12 se pueden observar algunos agentes anestésicos y analgésicos adecuados para perros de laboratorio.

**Tabla #11. Agentes Anestésicos y Analgésicos para Perros de Laboratorio**

Agente	Dosis	Ruta	Efecto	Comentario
Acepromazina	0.01-0.05 mg/kg	IM/SC/IV	Sedante	Contraindicado: Perros Boxer y Bulldog por mayor morbilidad y mortalidad
Morfina	0.25–0.5 mg/kg q 2–3 h IV; 0.1–0.2 mg/kg/h infusión IV; 0.25–1 mg/kg q 2–4 h IM, SC	IM/IV/SC	Analgésico opioide	Analgésia clínicamente relevante dentro de 5-15 mins, duración de 4 h. Efectos adversos: sedación, emesis, hipotermia, estreñimiento, disforia, dolor a la inyección, defecación, jadeo, miosis, depresión respiratoria y diuresis.
Metadona	0.5-1 mg/kg q 6-8 h	IV/IM/SC	Analgésico opioide	Administrado con precaución en perros propensos a ICC, con enfermedad cardíaca subyacente o HTA. Perros Galgos: Dosis recomendada de 1 mg/kg q 3-4 h
Buprenorfina	0.01–0.04 mg/kg q 4–8 h	IM/IV/SC	Analgésico opioide	Efectos analgésicos no son mucho más prolongados que los efectos de la morfina. Efectos adversos: euforia, cambios cardiovasculares (aumento en TPR).
Medetomidina	1–20 µg/kg IV; Tasa de infusión constante 1–5 µg/kg/h IM	IV/IM	Sedante, Analgésico	Contraindicaciones: Animales con gasto cardíaco comprometido, precaución con animales con diabetes mellitus.
Propofol	3–7 mg/kg; 0.2–0.6 mg/kg/min	IV	Agente de inducción	Tiempo de inconsciencia generalmente dura de 2-8 mins. Tiempo de recuperación más largo para perros Galgos.
Sevofluorano	7-8% inducción; 1.6-2.2% mantenimiento	Inhalatoria	Anestésico	No produce irritación de vías aéreas. Aumenta PIC, administrar a concentraciones inferiores a 1 vez la CAM en perros con hipertensión craneal.
Isoflurano	4-5% inducción; 2-3% mantenimiento	Inhalatoria	Anestésico	Recomendado en perros con insuficiencia hepática. Aumenta PIC, administrar a concentraciones inferiores a 1 vez la CAM en perros con hipertensión craneal.

**Descripción.** IM: Intramuscular. IV: Intravenosa. ISC: Subcutáneo. ICC: Insuficiencia cardíaca congestiva. HTA: Hipertensión arterial. TPR: Resistencia periférica total. PIC: Presión intracraneal. CAM: Concentración alveolar mínima. (Riviere & Papich, 2018; Hubretch, 2014; Rioja et al., 2013).

## **CAPÍTULO 4: CRITERIOS DE PUNTO FINAL**

### **Eutanasia**

La eutanasia se define como la muerte de un animal en una manera en la que el dolor y angustia son minimizados o eliminados. El método de elección para perros de laboratorio es la sedación y posterior uso de barbitúricos por vía intravenosa (IV). Esta vía es aplicada con la excepción de que resulte dolorosa, peligrosa o impráctica por un tamaño muy pequeño del animal, en tal caso se debe administrar por vía intraperitoneal (IP) (American Veterinary Medical Association, 2020).

La administración IV de 200 mg/ml o 20% de pentobarbital ha sido considerado como el método de eutanasia más recomendado para perros, ya que provoca una muerte sin dolor, es económico, fácil de usar y seguro para el operador. La dosis letal para perros es de 40 a 60 mg/kg IV, aunque la dosis recomendada para la eutanasia es de 85 mg/kg IV. Con frecuencia, la lidocaína como bolo IV de 1,5 a 2 mg/kg es utilizada para incrementar la depresión cardiovascular. La eutanasia debe ser llevada a cabo por personal competente, entrenado o capacitado para esta práctica. Se requiere la presencia de dos personas, un operador y un asistente, donde el último está encargado del manejo del animal de una forma segura y el operador es responsable de administrar la inyección. El sitio de inyección de elección es la vena cefálica, en el caso de que esta no sea accesible, se puede inyectar en la vena safena (Riviere & Papich, 2018).

Se debe considerar los objetivos de la investigación en la elección de la eutanasia, ya que puede conducir a artefactos metabólicos e histológicos que pueden afectar los resultados del estudio, como por ejemplo los artefactos en los tejidos intestinales como consecuencia del uso de barbitúricos. Adicionalmente, el área donde se realiza la eutanasia debe estar libre de ruido y aislado de las otras actividades y animales, tener buena iluminación y ventilación, espacio suficiente para que dos personas se puedan

mover libremente y minimizar los olores, imágenes y sonidos; esto tiene como objetivo prevenir el estrés de los animales. Se debe contar con el equipo necesario, como un estetoscopio, tijeras, balanza, torniquetes, agujas de calibre 18 a 22 y largo de 1 pulgada, jeringas variadas de 5, 10 y 20 mililitros, bolsa para cadáveres, entre otros. El consumo del cuerpo por parte de otros animales puede causar sedación o muerte de estos. Esto se debe a que los agentes utilizados para la eutanasia dejan residuos que persisten en los restos del animal de laboratorio. Para evitar este problema, se recomienda incinerar o cremar los restos, de no ser posible, enterrar inmediatamente de forma profunda (American Veterinary Medical Association, 2020).

### **Adopción como Mascotas**

En el caso de que no exista ninguna razón para la eutanasia del perro de laboratorio, estos pueden ser adoptados como mascotas. El veterinario designado debe realizar una evaluación del estado de salud del perro al final de la investigación, para decidir si son elegibles para ser reubicados. El objetivo de la reubicación es ofrecer a los perros de laboratorio una buena calidad de vida posterior a su uso como modelos experimentales. Se requiere que los animales seleccionados pasen por un proceso de socialización para prepararse para su nuevo hogar (Hänninen & Norring, 2020).

Los perros de laboratorio se logran adaptar bien a sus nuevos hogares. Buscan tener contacto con los propietarios, son amigables con otros miembros de la familia, incluyendo niños y otros perros, les gusta ser acariciados y permiten voluntariamente un cuidado higiénico. Responden rápidamente a las órdenes, tienen un buen comportamiento durante las caminatas con correa y permanecen relajados con el paso de automóviles. Adicionalmente, presentan un comportamiento cauteloso o amigable hacia niños desconocidos y transeúntes y un comportamiento amistoso hacia otros perros desconocidos. Se muestran tolerantes hacia el médico veterinario y la examinación por

parte del propietario. La mayoría permanecen relajados en los paseos de autos, aunque algunos perros pueden presentar mareos. Algunos factores de influencia positivos incluyen un entrenamiento regular de obediencia con refuerzo positivo y premios y castigos frecuentes, por lo que estos se recomiendan. También es necesaria una selección y educación cuidadosa de los nuevos propietarios e informarles acerca de los posibles problemas de comportamiento que incluyen problemas de separación, miedo a los sonidos y objetos, así como proporcionarles consejos sobre la mejor manera de prevenirlos (Döring et al., 2017).

Se requiere realizar un programa de socialización previo a la reubicación de los perros de laboratorio. Estos deben ser entrenados para caminar con correa, interactuar y socializar en entornos domésticos y condicionarles para reducir su ansiedad frente a eventos estimulantes. Para lograr esto, se recomienda un entrenamiento que incluya caminatas fuera del centro de investigación durante 1 hora, de 25 a 35 veces mínimo durante seis meses. Se debe incentivar a que defequen y orinen al aire libre, además de tener períodos de juego y descanso supervisados. Se debe introducir a los perros a desconocidos para prepararlos para conocer gente nueva y evaluar sus respuestas. Aunque es común que se presenten inconvenientes menores con el entrenamiento, miedo y ansiedad por separación, estos son problemas comunes con todos los perros. Se recomienda que las instalaciones de investigación ofrezcan a los perros áreas separadas para defecar, orinar y descansar, así como carreras al aire libre y/o caminatas regulares, ya que no solo preparan a los perros para la reubicación en hogares, sino mejoran su bienestar y su adaptación a experimentos (Hänninen & Norring, 2020).

Los perros de laboratorio pueden ser adoptados independientemente de su edad, raza o sexo, o si hay la presencia de niños en la familia. No obstante, aunque los perros Beagle de laboratorio tienen un comportamiento muy dócil y rara vez son agresivos, es

importante que la familia implemente reglas de seguridad entre el perro y el niño, para prevenir mordeduras. La tasa de éxito de la reubicación de perros de laboratorio es del 94%, por lo que se concluye que la misma puede resultar de forma muy positiva y, por lo tanto, debe ser facilitado (Döring et al., 2017).

## ANEXO B: FORMA CORTA DE LA ESCALA DE DOLOR COMPUESTA DE GLASGOW

Tabla #12. Forma Corta De La Escala De Dolor Compuesta De Glasgow

Forma Corta De La Escala De Dolor Compuesta De Glasgow			
<b>Nombre del perro:</b>		<b>Fecha:</b>	
<b>ID del Paciente:</b>		<b>Hora:</b>	
<b>¿Se realizó una intervención quirúrgica? SÍ/NO (Marque la respuesta correcta)</b>			
<b>Tipo de cirugía realizada:</b>			
<i>Para cada serie de preguntas, encierre en un círculo la puntuación correspondiente a la respuesta más adecuada. La suma de las distintas puntuaciones representa la puntuación total.</i>			
<b>A. Observar al perro en la jaula.</b>			
El perro está:			
(I)	(II)		
Tranquilo	0	Ignora cualquier herida o área dolorosa	0
Llorando	1	Observa la herida o área dolorosa	1
Gimiendo	2	Lame la herida o área dolorosa	2
Gritando	3	Frota la herida o área dolorosa	3
		Muerde la herida o área dolorosa	4
<i>En caso de fracturas de columna, pelvis, en presencia de fracturas múltiples en las extremidades, o si se requiere asistencia para permitir la locomoción, no complete el apartado B, marque la siguiente casilla <input type="checkbox"/> y proceda directamente a completar el apartado C.</i>			
<b>B. Poner la correa al perro y animarlo a salir de la jaula.</b>		<b>C. Si tiene una herida o área adolorida, aplique una presión suave alrededor de esta área a una distancia de aproximadamente 1 a 3 cm.</b>	
Cuando el perro se levanta/camina es:		¿Qué hace el perro?	
(III)	(IV)		
Normal	0	Nada	0
Cojea	1	Observa la herida o área de dolor	1
Lento o reacio	2	Se retira	2
Rígido	3	Gruñe/protege el área	3
Se niega a moverse	4	Intenta morder	4
		Llora	5
<b>D. Evaluación General</b>			
El perro está:			
(V)	(VI)		
Feliz y contento o feliz y animado	0	A gusto	0
Tranquilo/quieto	1	Molesto/angustiado	1
Indiferente/no reacciona a estímulos ambientales	2	Agitado, no se queda quieto	2
Nervioso, ansioso o temeroso	3	Tenso	3
Deprimido	4	Rígido	4
<b>PUNTUACIÓN TOTAL (I+II+III+IV+V+VI) =</b>			

**Descripción.** La escala de dolor es la suma de los puntajes de rango, con un puntaje máximo de 24 (20 si la locomoción es imposible de evaluar). El puntaje total es un indicador útil de requerimiento de analgésicos; el nivel recomendado de intervención analgésica es 6/24 (o 5/20) (Della Rocca et al., 2018).