

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias de la Salud

Revisión sistemática de información sobre las condiciones de manejo de la cepa BALB/c del ratón común (*Mus musculus*) para la elaboración de un protocolo de manejo

María Virginia Tamayo Núñez

Medicina Veterinaria

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

Quito, 21 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

Revisión sistemática de información sobre las condiciones de manejo de la cepa BALB/c del ratón común (*Mus musculus*) para la elaboración de un protocolo de manejo

María Virginia Tamayo Núñez

Nombre del profesor, Título académico

Rommel Lenin Vinueza DMVZ, M.Sc.

Quito, día 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: María Virginia Tamayo Núñez

Código: 00200832

Cédula de identidad: 1720307675

Lugar y fecha: Quito, 21 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UNPUBLISHED DOCUMENT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

En esta revisión sistemática se presenta un análisis de artículos científicos, guías de manejo, libros, publicaciones universitarias y documentos legislativos para la elaboración de un protocolo de manejo para la cepa BALB/c del ratón común (*Mus musculus*). El período de información recopilada es desde el año 2007 hasta el año 2022, enfocándose en cuatro capítulos los cuales fueron: Biología de la especie, Normativa de manejo, Procedimientos en fase de experimentación y Criterios de punto final. Un total de 84 documentos fueron incluidos en este estudio, de los cuales constan 70 artículos, 5 guías de manejo, 4 libros, 3 publicaciones universitarias y 2 documentos legislativos. Los temas que se incluyen en este manual abarcan peso y necesidades nutricionales, ciclo reproductivo, parámetros fisiológicos, historia natural, hematología, anatomía, etología, alojamiento, bioseguridad, selección del animal, transporte animal, bienestar animal, manipulación del animal, reconocimiento del dolor y angustia, anestesia, analgesia, eutanasia y relocalización, los cuales se estandarizan mediante un análisis comparativo. La caracterización de esta cepa permitió la elaboración de un protocolo que puede ser acoplado en diversos estudios, tanto en la USFQ como en otras instituciones en las cuales las condiciones ambientales puedan controlarse.

Palabras clave: ratón(es), BALB/c, manual, laboratorio, organismo(s), modelo(s), protocolo, condición(es), necesidad(es), experimentación.

ABSTRACT

This systematic review presents an analysis of scientific articles, care guidelines, books, university publications and legislative documents for the development of a care manual for the BALB/c strain of the house mouse (*Mus musculus*). The period of information collected is from 2007 to 2022, focusing on four chapters which were: Biology of the species, Management regulations, Procedures in the experimentation phase and End point criteria. A total of 84 documents were included in this study, involving 70 articles, 5 management guides, 4 books, 3 university publications and 2 legislative documents. Topics covered in this manual cover weight and nutritional needs, reproductive cycle, physiological parameters, natural history, hematology, anatomy, ethology, housing, biosecurity, animal selection, animal transport, animal welfare, animal handling, pain recognition and distress, anesthesia, analgesia, euthanasia, and relocation, which are standardized by comparative analysis. The characterization of this strain allowed the development of a protocol that can be used in various studies, both at USFQ and at other institutions in which the environmental conditions can be controlled.

Key words: mice(mouse), BALB/c, manual, laboratory, organism(s), model(s), protocol, condition(s), necessity(ies), experiment.

TABLA DE CONTENIDO

Resumen	5
Abstract.....	6
Tabla de contenido	7
Índice de tablas.....	10
Índice de gráficos	11
Introducción	12
Metodología	13
Resultados	14
Características de estudios elegibles.....	14
Capítulo 1: Biología de la especie	14
Capítulo 2: Normativa de manejo.....	16
Capítulo 3: Procedimientos en fase de experimentación.....	17
Capítulo 4: Criterios de punto final	19
Discusión	20
Revisión sistemática de información	20
Conclusiones	24
Referencias bibliográficas	25

PROTOCOLO DE MANEJO

Biología de la especie.....	35
Historia natural de la cepa balb/c.....	35
Anatomía.....	36

Parámetros fisiológicos.....	36
Ciclo reproductivo	38
Peso y necesidades nutricionales	39
Hematología.....	40
Etología.....	42
Normativa de manejo.....	43
Selección del animal	43
<i>Admisión de nuevos animales y cuarentena</i>	<i>43</i>
Transporte animal	44
Alojamiento	44
<i>Microambiente y macroambiente</i>	<i>44</i>
<i>Hábitat.....</i>	<i>45</i>
<i>Manejo poblacional.....</i>	<i>45</i>
<i>Agua y alimento.....</i>	<i>47</i>
<i>Enriquecimiento ambiental.....</i>	<i>47</i>
<i>Temperatura, humedad y ventilación</i>	<i>48</i>
<i>Iluminación.....</i>	<i>49</i>
<i>Ruido y vibración.....</i>	<i>50</i>
Bioseguridad	51
<i>Sanidad e higiene.....</i>	<i>51</i>
<i>Control de patologías</i>	<i>51</i>
Procedimientos en fase de experimentación.....	52
Bienestar animal	52
Reconocimiento del dolor y angustia	53
Manipulación del animal	54
Anestesia y analgesia	54
Criterios de punto final	55
Eutanasia.....	55
Relocalización.....	56

Anexos	57
<i>Anexo 1</i>	<i>57</i>
<i>Anexo 2</i>	<i>59</i>
<i>Anexo 3</i>	<i>60</i>
<i>Anexo 4</i>	<i>62</i>
<i>Anexo 5</i>	<i>63</i>

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Referencias bibliográficas utilizadas en el Capítulo 1: Biología de la especie.	15
Tabla 2. Referencias utilizadas en el Capítulo 2: Normativa de manejo.	16
Tabla 3. Referencias bibliográficas utilizadas en el Capítulo 3: Procedimientos en Fase de Experimentación.	18
Tabla 4. Referencias bibliográficas utilizadas en el Capítulo 4: Criterios de Punto Final.	19
Tabla 5. Parámetros fisiológicos estándar en ratones.	37
Tabla 6. Valores normales en química sanguínea de ratones.	37
Tabla 7. Valores hematológicos en ratones.	41
Tabla 8. Aporte nutricional de los ingredientes, minerales y vitaminas estándar en una dieta AIN93.	57
Tabla 9. Nutrientes estándar en dietas de ingredientes purificados y dietas a base de cereales.	59
Tabla 10. Etograma para ratones de laboratorio.	60
Tabla 11. Protocolo para el uso de anestesia inyectable, analgesia, antibióticos quirúrgicos y anestesia inhalatoria.	63

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Documentos bibliográficos utilizados, clasificados según su formato de publicación. Los artículos científicos son la literatura más citada, seguidos por guías de manejo, libros y finalmente tesis de pregrado.	14
Gráfico 2. Cantidad de referencias utilizadas en cada sección del Capítulo 1. ..	15
Gráfico 3. Cantidad de referencias utilizadas en cada sección del Capítulo 2. .	17
Gráfico 4. Cantidad de referencias utilizadas en cada sección del Capítulo 3. ..	18
Gráfico 5. Cantidad de referencias utilizadas en cada sección del Capítulo 4. .	19
Gráfico 6. Escala de Grimace en ratones.	62

INTRODUCCIÓN

El ratón común, *Mus musculus*, ha sido utilizado como modelo de experimentación debido a que son animales de fácil cuidado y mantenimiento por lo que sus costos de manutención son bajos. Adicionalmente, provienen de una cepa específica, que en este caso es la BALB/c, la cual es una cepa diseñada para estudios de farmacología, teratogenia, cardiología, microbiología producción de células monoclonales, entre otros. Estos estudios se llevan en condiciones de laboratorio, utilizando a los organismos modelo para estudiar las reacciones fisiológicas que presenten (Instituto Nacional de Salud, 2008).

Los ratones de la cepa BALB/c derivan de una colonia obtenida endogámicamente en Maryland. Es una cepa albina que actualmente cuenta con más de 200 colonias que se han distribuido a nivel mundial en trabajos donde se requiere experimentación con animales. Dentro de las características especiales de esta cepa constan la susceptibilidad a listeria, leishmaniasis y tripanosoma, la propensión a formación de plasmocitomas y tumores de glándulas mamaria y su sensibilidad a la encefalomiелitis (Instituto Pasteur de Montevideo, 2018; The Jackson Laboratory, 2015).

La facilidad de adaptación y la eficiencia reproductiva de estos animales permite que sean objeto de estudio en diversas investigaciones. Los animales usados en modelos de experimentación requieren de un estricto control de las condiciones de manejo, estado zoonosanitario y bienestar de modo que los resultados de las investigaciones sean confiables y reproducibles en un futuro (Jaramillo et al., 2013). Este estudio se basó en la normativa vigente de bienestar animal en Ecuador en el año 2022, aplicada dentro del Distrito Metropolitano de Quito descrita en el documento “Resolución XX” de AGROCALIDAD (2018) y la Ordenanza Metropolitana No. 019 de la Secretaria General del Concejo Metropolitano De Quito (2020).

Mediante este trabajo se analizó fuentes bibliográficas como manuales de manejo, normativas de bienestar animal y artículos científicos relacionados al uso de la cepa BALB/c del ratón común para poder establecer un protocolo de manejo para la experimentación en laboratorios de la Universidad San Francisco de Quito. La necesidad de este trabajo surgió debido a que esta institución no contaba con pautas de

manejo preestablecidas para la experimentación, por lo que el bienestar animal podría verse comprometido (Rodríguez et al., 2020).

METODOLOGÍA

En el presente trabajo se realizó una recopilación y análisis sistemático de la información presentada en manuales de manejo, artículos científicos y revisiones de literatura sobre el manejo de las cepas BALB/c del ratón común en condiciones de laboratorio con el fin de experimentación con organismos modelo. Para esto se seleccionó el periodo comprendido entre 2007 y 2022, se utilizó un período de 15 años de investigación.

Los buscadores ocupados fueron Google Scholar, Pubmed, Elsevier, SciELO, WebMD y Springer, los cuales permitieron la recopilación de información sobre las condiciones necesarias para el mantenimiento de organismos modelo como la cepa BALB/c. Las palabras claves consideradas en esta investigación fueron: *BALB/c*, *manual*, *laboratory*, *mice(mouse)*, *model organism(s)*, *protocol*, *condition(s)*, *necessity(ies)*, *experiment* en combinación el conector AND para añadir palabras claves de cada capítulo desarrollado. La investigación se llevó a cabo en dos idiomas, siendo español e inglés.

Los criterios de inclusión para la elaboración del protocolo de manejo fueron: publicaciones realizadas entre 2007 y 2022, estudios de alta rigurosidad científica, libros y/o manuales de manejo de roedores desarrollados por asociaciones de bienestar animal. Se excluyeron documentos relacionados con otras cepas de ratón *Mus musculus* y artículos cuyos estudios comprometan el bienestar animal. Las referencias bibliográficas recopiladas se citaron mediante el gestor bibliográfico Zotero.

Los resultados obtenidos se sometieron a un análisis y sistematización de la información para el desarrollo de un protocolo de manejo. Los datos se obtuvieron por medio de motores de búsqueda científica, a partir de 90 documentos. Dependiendo de los criterios necesarios se seleccionaron las fuentes más aptas para el trabajo, para asegurar el bienestar animal y obtención de resultados experimentales óptimos para futuros estudios en la USFQ.

RESULTADOS

CARACTERÍSTICAS DE ESTUDIOS ELEGIBLES

La revisión sistemática de información sobre las condiciones de manejo de la cepa BALB/c del ratón común (*Mus musculus*) para la elaboración de un protocolo aplicable en el laboratorio de la USFQ se formuló a partir de 91 documentos. En base a los criterios de búsqueda, 7 documentos fueron excluidos debido a que no cumplían con los criterios de inclusión, considerando que eran publicaciones de cepas genéricas alternas, documentos no publicados o estudios que atentan contra el bienestar animal.

El protocolo de manejo se redactó a partir de 84 documentos incluidos: 70 artículos, 5 guías de manejo, 4 libros, 3 publicaciones universitarias y 2 documentos legislativos (Gráfico 1). Esta bibliografía fue clasificada y sistematizada en cuatro capítulos: Capítulo 1: Biología de la Especie, Capítulo 2: Normativa de Manejo, Capítulo 3: Procedimientos en fase de experimentación y Capítulo 4: Criterios de punto final.

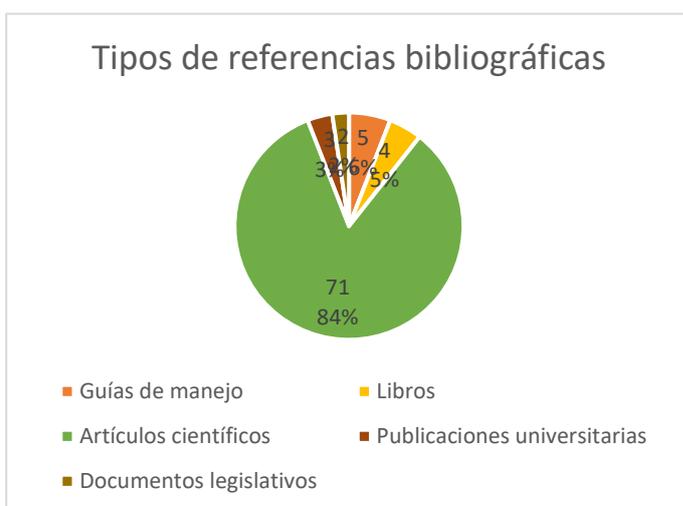


Gráfico 1. Documentos bibliográficos utilizados, clasificados según su formato de publicación. Los artículos científicos son la literatura más citada, seguidos por guías de manejo, libros y finalmente tesis de pregrado.

CAPÍTULO 1: BIOLOGÍA DE LA ESPECIE

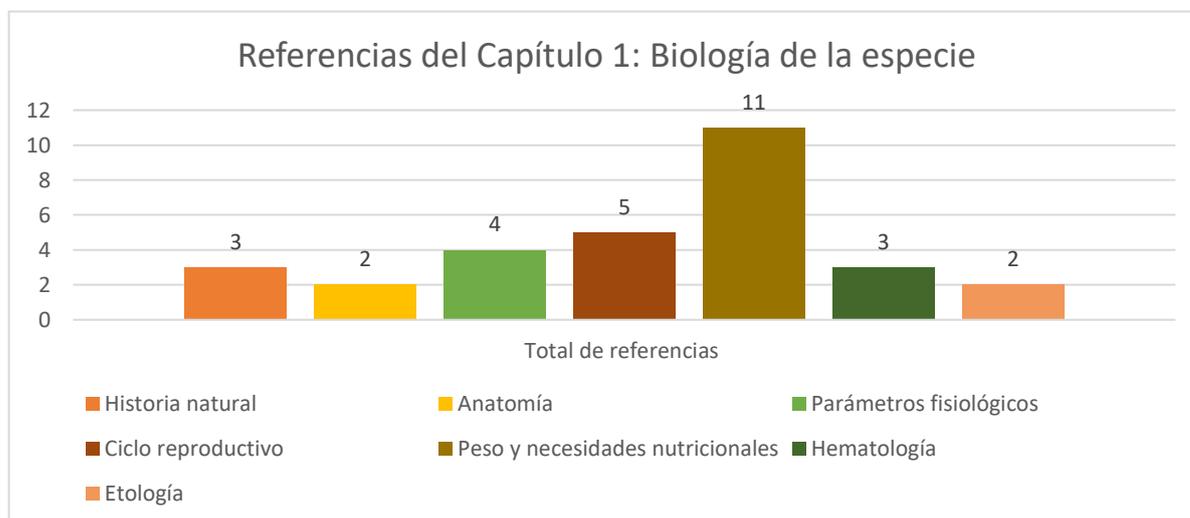
Corresponde a una recopilación bibliográfica de la historia natural, anatomía, parámetros fisiológicos, ciclo reproductivo, peso y nutrición, hematología y etología de la cepa de ratón BALB/c. Este capítulo se desarrolla para poder caracterizar al ratón BALB/c, comprendiendo sus necesidades biológicas, anatómicas y fisiológicas y cómo las alteraciones de estos parámetros se expresan por medio de datos cuantitativos y cualitativos. En la tabla 1 se describe el autor, año y título de cada documento utilizado en las distintas secciones del Capítulo 1, en relación con la frecuencia de su uso.

Tabla 1. Referencias bibliográficas utilizadas en el Capítulo 1: Biología de la especie.

Autor	Año	Título del documento	Historia Natural	Anatomía	Parámetros fisiológicos	Ciclo reproductivo	Peso y nutrición	Hematología	Etología
Asaba et al.	2014	Sexual attractiveness of male chemicals and vocalizations in mice				+			
Caligioni	2009	Assessing Reproductive Status/Stages in Mice				+			
Farias Santos et al.	2015	La ingesta de la dieta estándar ain-93 induce esteatosis hepática con alterado perfil de ácidos grasos en ratones					+		
Fuentes et al.	2008	Perfil lipídico, protéico y glicemia en ratones NMRI, C57BL/6 y Balb/c producidos en la UCLA. Venezuela			+				
Jorgensen et al.	2014	A Possible Link between Food and Mood: Dietary Impact on Gut Microbiota and Behavior in BALB/c Mice					+		
Klurfeld et al.	2021	Should the AIN-93 Rodent Diet Formulas be Revised?					+		
Park et al.	2012	A high-fat diet increases angiogenesis, solid tumor growth, and lung metastasis of CT26 colon cancer cells in obesity-resistant BALB/c mice					+		
Pellizzon & Ricci	2020	Choice of Laboratory Rodent Diet May Confound Data Interpretation and Reproducibility					+		
Pessini et al.	2020	Hematological reference values and animal welfare parameters of BALB/C-FMABC (Mus musculus) inoculated with Ehrlich tumor kept in the vivarium at ABC Medical School	+						
Phifer-Rixey & Nachman	2015	Insights into mammalian biology from the wild house mouse Mus musculus	+			+	+		+
Reeves	1997	Components of the AIN-93 Diets as Improvements in the AIN-76A Diet					+	+	
Santos et al.	2016	Hematological and biochemical reference values for C57BL/6, Swiss Webster and BALB/c mice						+	
Schwiebert	2007	The Laboratory Mouse				+			+
Stechman et al.	2010	Establishing normal plasma and 24-hour urinary biochemistry ranges in C3H, BALB/c and C57BL/6J mice following acclimatization in metabolic cages			+		+		
Suckow et al.	2001	The Laboratory Mice		+	++	+	+	+	
Vargas et al.	2018	Manejo de animales del Bioterio de la UAM-I	+	+	+		+		
Xu et al.	2013	Effect of dietary nucleotides on immune function in Balb/C mice					+		

Descripción: En el Capítulo 1 se utilizó un total de 17 fuentes bibliográficas. El símbolo “+” representa la frecuencia con la que cada autor fue citado.

El desarrollo del Capítulo 1 se llevó a cabo en 7 secciones, para las cuales se utilizó una cantidad variable de literatura citada. La cantidad de referencias utilizadas es más alta en la sección de Peso y necesidades nutricionales, con un total de 11 referencias, mientras que la sección con menor cantidad de fuentes utilizadas fueron las secciones de Anatomía y Etología, con 2 respectivamente. En el Gráfico 2 se detalla la cantidad de referencias utilizadas en las distintas secciones del Capítulo 1.

**Gráfico 2.** Cantidad de referencias utilizadas en cada sección del Capítulo 1.

CAPÍTULO 2: NORMATIVA DE MANEJO

El Capítulo 2 “Normativa de Manejo” consta de una recopilación bibliográfica basada en la selección del animal, alojamiento, bioseguridad y transporte de los ratones. En la tabla 2 se describe el autor, año y título de cada documento utilizado en las distintas secciones del Capítulo 2, en relación con la frecuencia de su uso.

Tabla 2. Referencias utilizadas en el Capítulo 2: Normativa de manejo.

Autor	Año	Título del documento	Selección del animal	Alojamiento	Bioseguridad	Transporte animal
Arenschia	2010	Important considerations about rats and mice quarantine as experimental animal models in toxicology	+			+
Baloo et al.	2018	Effects of Cage Enrichment on Behavior, Welfare and Outcome Variability in Female Mice		+		
Blankenberger et al.	2018	Breaking up is hard to do: Does splitting cages of mice reduce aggression?		+		
Canadian Council on Animal Care	2019	CCAC guidelines: Mice		+++	+	
F. Fuentes & Mendoza	2008	Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: ratón		+++		
Fierro	2010	Determinación de Buenas Prácticas de Producción de ratones (Mus musculus) en el Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia		+		
Fischer et al.	2018	Optimal housing temperatures for mice to mimic the thermal environment of humans: An experimental study		+		
Fujioka et al.	2011	Effects of a constant light environment on hippocampal neurogenesis and memory in mice		+		
Gaskill et al.	2009	Some like it hot: Mouse temperature preferences in laboratory housing		++		
Gaskill et al.	2012	Heat or Insulation: Behavioral Titration of Mouse Preference for Warmth or Access to a Nest		+		
Gaskill et al.	2013	Impact of nesting material on mouse body temperature and physiology		+		
Gonder & Laber	2007	A Renewed Look at Laboratory Rodent Housing and Management		+		
Hess et al.	2008	Home Improvement: C57BL/6J Mice Given More Naturalistic Nesting Materials Build Better Nests		+		
Hortzky	2019	The Benefits of Environmental Enrichment for Laboratory Mice		+		
Huerkamp & Pulliam	2009	Chapter 26 - Quarantine facilities and operations	++			
Kallnik et al.	2007	Impact of IVC housing on emotionality and fear learning in male mice		+		
Kejzer et al.	2019	What is the best housing temperature to translate mouse experiments to humans?		+		
Kercmar et al.	2011	Adolescent social isolation changes social recognition in adult mice		+		
Lynch et al.	2010	Skeletal effects of whole-body vibration in adult and aged mice		+		
Montes Garcia	2018	Diseño de protocolo para el manejo de ratones			+	
National Research Council of the National Academies	2011	Guide for the Care and Use of Laboratory Animals: Eighth Edition		++	+	
Nicholson et al.	2009	The Response of C57BL/6J and BALB/cJ Mice to Increased Housing Density		+		
Nicolaus et al.	2016	Effect of Ventilated Caging on Water Intake and Loss in 4 Strains of Laboratory Mice		+		
Olfe et al.	2010	Different stress-related phenotypes of BALB/c mice from in-house or vendor: alterations of the sympathetic and HPA axis responsiveness				+
Panksepp & Lahvis	2007	Social reward among juvenile mice		+		
Phifer-Riney & Nachman	2015	Insights into mammalian biology from the wild house mouse Mus musculus		+		
Pritchett-Corning et al.	2009	Contemporary prevalence of infectious agents in laboratory mice and rats			+	
Rasmussen et al.	2009	Construction Noise Decreases Reproductive Efficiency in Mice		+		
Reynolds et al.	2018	Vibration in mice: A review of comparative effects and use in translational research		+		
Rosenbaum et al.	2009	Effects of Cage-Change Frequency and Bedding Volume on Mice and Their Microenvironment		+		
Secretaría General del Concejo Metropolitano de Quito	2020	Ordenanza Metropolitana N.019	+			
Sherwin	2007	Validating refinements to laboratory housing: asking the animals		+		
Suckow et al.	2001	The Laboratory Mouse			+	
Stainberg & Chen	2010	An environmental enrichment model for mice		+		
Tripul & Arévalo	2021	Estación Agrometeorológica - Escuela Superior Politécnica de Chimborazo		+		
Van Loo et al.	2007	Impact of 'living apart together' on postoperative recovery of mice compared with social and individual housing		+		
Ward et al.	2009	Humidity and Cage and Bedding Temperatures in Unoccupied Static Mouse Caging after Steam Sterilization		+		
Weinheimer-Haus et al.	2014	Low-Intensity Vibration Improves Angiogenesis and Wound Healing in Diabetic Mice		+		
York et al.	2012	Individually ventilated cages cause chronic low-grade hypoxia impacting mice hematologically and behaviorally		+		

Descripción: En el Capítulo 2 se utilizó un total de 39 fuentes bibliográficas. El símbolo “+” representa la frecuencia con la que cada autor fue citado.

El desarrollo del Capítulo 2 se llevó a cabo en 4 secciones. En orden descendente, la cantidad de referencias utilizadas en cada sección es el siguiente: Alojamiento, 32; Bioseguridad, 5; Selección del animal, 3 y Transporte animal, 2. Cabe

mencionar que la sección de Alojamiento se subdivide en los temas de: Microambiente y Macroambiente, Hábitat, Manejo poblacional, Agua y alimento, Enriquecimiento ambiental, Temperatura, humedad y ventilación, Iluminación y Ruido y vibración. En el Gráfico 3 se detalla la cantidad de referencias utilizadas en las distintas secciones del Capítulo 2.

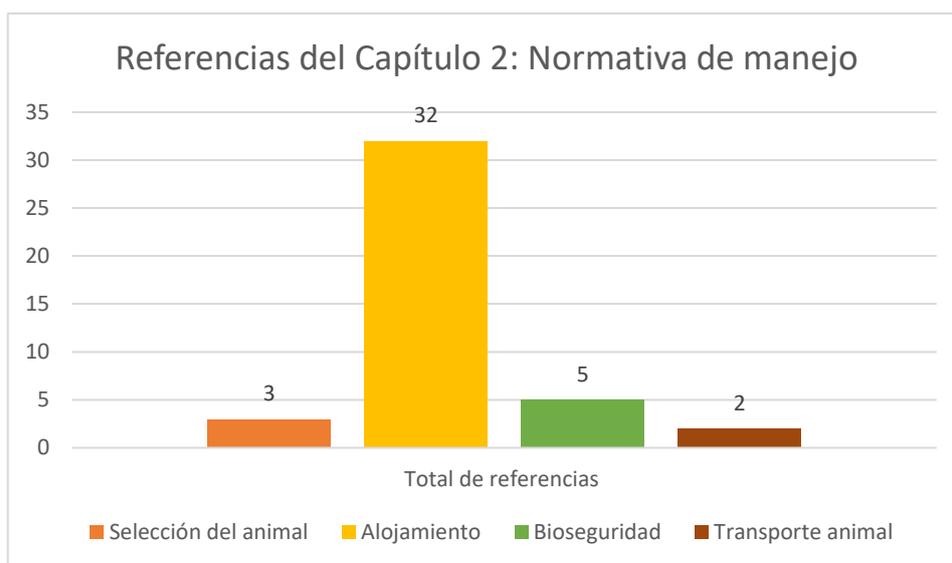


Gráfico 3. Cantidad de referencias utilizadas en cada sección del Capítulo 2.

CAPÍTULO 3: PROCEDIMIENTOS EN FASE DE EXPERIMENTACIÓN

El Capítulo 3 “Procedimientos en fase de experimentación” consta de una recopilación bibliográfica basada en el bienestar animal, reconocimiento del dolor y angustia, manipulación animal y anestesia y analgesia. Este capítulo se desarrolla para establecer un protocolo de manejo adecuado durante la experimentación. En la tabla 3 se describe el autor, año y título de cada documento utilizado en las distintas secciones del Capítulo 3, en relación con la frecuencia de su uso.

Tabla 3. Referencias bibliográficas utilizadas en el Capítulo 3: Procedimientos en Fase de Experimentación.

Autor	Año	Título del documento	Bienestar animal	Reconocimiento del dolor y angustia	Manipulación del animal	Anestesia y analgesia
AGROCALIDAD	2018	Resolución XX	+	+		
Bailoo et al.	2018	Effects of Cage Enrichment on Behavior, Welfare and Outcome Variability in Female Mice	+			
Clarkson et al.	2018	Handling method alters the hedonic value of reward in laboratory mice			+	
Ewald et al.	2011	Monitoring of Vital Signs for Long-Term Survival of Mice under Anesthesia				+
F. Fuentes & Mendoza	2008	Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: ratón			+	
Fierro	2010	Determinación de Buenas Prácticas de Producción de ratones (Mus musculus) en el Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia		+		
Gargiulo et al.	2012	Mice Anesthesia, Analgesia, and Care, Part I: Anesthetic Considerations in Preclinical Research				+
Gaskill et al.	2013	Impact of nesting material on mouse body temperature and physiology	+			
Gouveia & Hurst	2019	Improving the practicality of using non-aversive handling methods to reduce background stress and anxiety in laboratory mice			+	
Hobbiesiefken et al.	2021	Evaluation of different types of enrichment - their usage and effect on home cage behavior in female mice	+			
Hurst & West	2010	Taming anxiety in laboratory mice			+	
Jonckers et al.	2014	Different anesthesia regimes modulate the functional connectivity outcome in mice				+
Langford et al.	2010	Coding of facial expressions of pain in the laboratory mouse		+		
Leach & Main	2008	An assessment of laboratory mouse welfare in UK animal units	+			
Leach et al.	2008	Identification of appropriate measures for the assessment of laboratory mouse welfare	+			
Makowska et al.	2019	Standard laboratory housing for mice restricts their ability to segregate space into clean and dirty areas	+			
Maschi	2017	El efecto del enriquecimiento ambiental sobre la variabilidad de parámetros fisiológicos y conductuales en ratones de laboratorio		+		
Meagher	2009	Observer ratings: Validity and value as a tool for animal welfare research	+			
Neely et al.	2018	The Effect of Gentle Handling on Depressive-Like Behavior in Adult Male Mice: Considerations for Human and Rodent Interactions in the Laboratory			+	
Spangenberg & Keeling	2016	Assessing the welfare of laboratory mice in their home environment using animal-based measures – a benchmarking tool	+	+		
Turner et al.	2019	A Review of Pain Assessment Methods in Laboratory Rodents		+		
Vargas et al.	2018	Manejo de animales del Bioterio de la UAM-I			+	
Zheng et al.	2013	Sevoflurane Anesthesia in Pregnant Mice Induces Neurotoxicity in Fetal and Offspring Mice				+

Descripción: En el Capítulo 3 se utilizó un total de 22 fuentes bibliográficas. El símbolo “+” representa la frecuencia con la que cada autor fue citado.

El desarrollo del Capítulo 3 se llevó a cabo en 4 secciones. En orden descendente, la cantidad de referencias utilizadas en cada sección es el siguiente: Bienestar animal, 9; Manipulación del animal, 6; Reconocimiento del dolor y angustia, 5, Anestesia y analgesia, 4. En el Gráfico 4 se detalla la cantidad de referencias utilizadas en las distintas secciones del Capítulo 3.

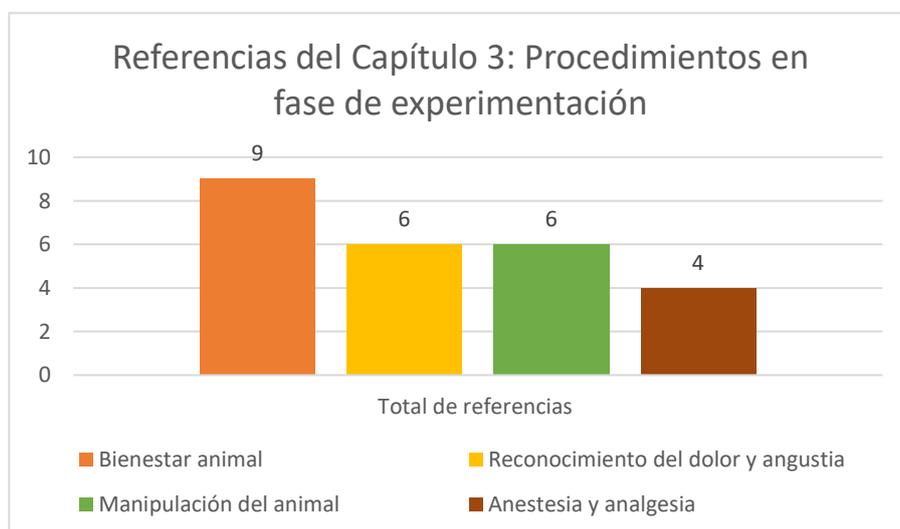


Gráfico 4. Cantidad de referencias utilizadas en cada sección del Capítulo 3.

CAPÍTULO 4: CRITERIOS DE PUNTO FINAL

El Capítulo 4 “Criterios de punto final” consta de una recopilación bibliográfica basada en la eutanasia y la relocalización. En la tabla 4 se describe el autor, año y título de cada documento utilizado en las distintas secciones del Capítulo 4, en relación con la frecuencia de su uso.

Tabla 4. Referencias bibliográficas utilizadas en el Capítulo 4: Criterios de Punto Final.

Autor	Año	Título del documento	Eutanasia	Relocalización
Boivin et al.	2017	Review of CO2 as a Euthanasia Agent for Laboratory Rats and Mice	+	
Canadian Council on Animal Care	2019	CCAC guidelines: Mice		+
Carbone et al.	2012	Assessing Cervical Dislocation as a Humane Euthanasia Method in Mice	+	
Hawkins et al.	2016	A Good Death? Report of the Second Newcastle Meeting on Laboratory Animal Euthanasia	+	
Leary & American Veterinary Medical Association	2020	AVMA guidelines for the euthanasia of animals: 2020 edition	+	
National Research Council of the National Academies	2011	Guide for the Care and Use of Laboratory Animals: Eighth Edition		+
Valentine et al.	2012	Sedation or Inhalant Anesthesia before Euthanasia with CO2 Does Not Reduce Behavioral or Physiologic Signs of Pain and Stress in Mice	+	

Descripción: En el Capítulo 4 se utilizó un total de 6 fuentes bibliográficas. El símbolo “+” representa la frecuencia con la que cada autor fue citado.

El desarrollo del Capítulo 4 se llevó a cabo en 2 secciones. En orden descendente, la cantidad de referencias utilizadas en cada sección es el siguiente: Eutanasia, 5 y Relocalización, 2. En el Gráfico 5 se detalla la cantidad de referencias utilizadas en las distintas secciones del Capítulo 4.

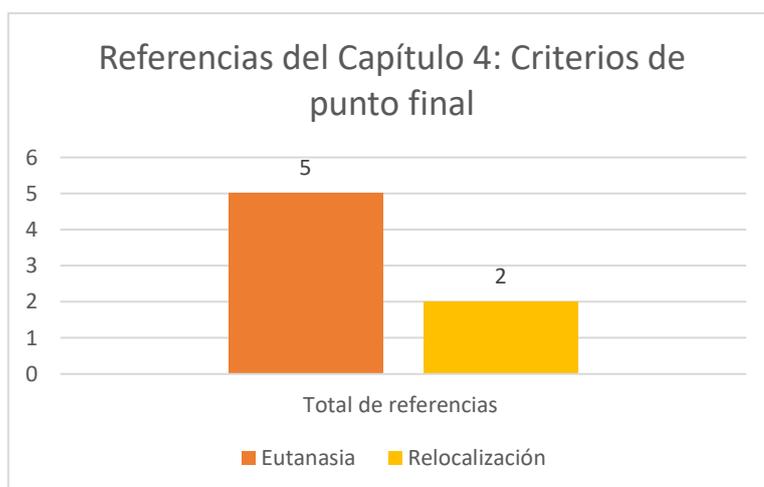


Gráfico 5. Cantidad de referencias utilizadas en cada sección del Capítulo 4.

DISCUSIÓN

REVISIÓN SISTEMÁTICA DE INFORMACIÓN

Las fuentes bibliográficas de mayor relevancia en la revisión sistemática fueron los artículos, debido a que contienen información más actualizada. Las guías, libros y tesis de pregrado son un complemento relevante para el estudio debido a que recopilan información generalizada de los ratones BALB/c, en contraste con los artículos que se enfocan en temas específicos. El capítulo del manual con el mayor número de literatura citada es el Capítulo 2 “Normativa de Manejo”, debido a que es el más relevante para la elaboración de un protocolo de manejo estándar.

La revisión sistemática de información sobre la cepa BALB/c del ratón común *Mus musculus* permitió la elaboración de un protocolo de manejo de esta especie para experimentación en laboratorio. Sin embargo, este protocolo de manejo no pudo contrastarse con las condiciones actuales de manejo de la institución debido a criterios de confidencialidad.

En el protocolo de manejo se utilizaron dos fuentes que no se encontraban dentro del rango de años descritos en los criterios de inclusión, esta excepción se da por las siguientes razones: 1) Suckow et al. (2001) es un libro de referencia para el mantenimiento de ratones en bioterio y datos como perfil hemático, bioquímica y parámetros fisiológicos no se han estandarizado en otras fuentes y 2) Reeves (1993) formuló una dieta estándar para ratones (AIN-93, detallada en el ANEXO 1) la cual sigue siendo la referencia actual para la elaboración de alimento comercial para ratones de laboratorio.

En el Capítulo “Biología de la especie” los autores más citados son Suckow et al. (2001), Vargas et al. (2018) y Phifer-Rixey & Nachamn (2015). La información recopilada de estas fuentes es que la cepa BALB/c es criada endogámicamente, tiene características anatómicas comunes con los ratones *Mus musculus* excepto por el albinismo característico, constantes fisiológicas como T ° (35.5 – 38), FR (60 - 230) y FC (325-780).

Según Pessini et al. (2020) esta cepa es ideal para estudios neoplásicos. Otros autores como M. Fuentes et al. (2008) mencionan los valores estándar de proteínas totales (5g/dl), albúmina (3.05 g/dl), glucosa (181.8mg/dl), colesterol (95.1mg/dl), triglicéridos (101.95mg/dl), urea (24.95mg/dl) y creatinina (0.45m/dl). Caligioni (2009),

Asaba et al. (2014) y Scwiebert (2007) realizan estudios sobre la reproducción, el ciclo estral (4 a 5 d), cortejo con vocalizaciones y feromonas, y efectos del macho sobre el estro de la hembra como el *Efecto Bruce*, *Efecto Lee-Boot* y *Efecto Whitten*. Además, mencionan el carácter tímido de los ratones y los comportamientos de mantenimiento, investigación e interacción social

Los autores Pellizon & Ricci (2020), Klurfeld et al. (2021), Reeves (1993), Farias Santos et al. (2015), Jørgensen et al. (2014), Park et al. (2012), y Xu et al. (2013) mencionan la importancia de mantener una dieta adecuada y el uso de las dietas purificadas estándar AIN-93 (ANEXO 1 Y ANEXO 2), con un consumo diario mencionada por Stetchman et al. (2010) de 12 a 18g por cada 100g de peso. Finalmente, Santos et al. (2016) estandariza valores celulares normales en estudios de hematología.

El Capítulo 2 “Normativa de Manejo” presenta las secciones de “Selección del animal”, “Alojamiento”, “Bioseguridad” y “Transporte del Animal”. El propósito de este capítulo es educar al investigador en torno a los requerimientos físicos de la cepa BALB/c, de modo que exista una planificación para la adecuación del bioterio y procedimientos previos a la investigación. Los autores más citados son Canadian Council on Animal Care (2019), National Research Council of the National Academies (2011) y F. Fuentes & Mendoza (2008). Las tres fuentes bibliográficas son guías de manejo y la recopilación de sus datos fue de importancia para esa revisión debido a que cuentan con especificaciones y recomendaciones en torno al alojamiento, las cuales pudieron ser comparadas con los artículos científicos a lo largo de esta sección.

Arencibia (2010) y Huerkamp & Pullium (2009) mencionan la importancia de realizar un examen físico general cuando nuevos animales son introducidos, y aplicar un protocolo de cuarentena en caso de sospecha de patologías infecciosas previo al alojamiento. La Secretaría General del Concejo Metropolitano de Quito (2020) establece las pautas para la adquisición y registro de animales en uso de experimentación en el Distrito Metropolitano de Quito. Los documentos legislativos que resguarden el bienestar animal en la ciudad de Quito son escasos, lo que puede comprometer a los organismos modelo como el ratón. Pese a que se indique la infracción de penalidades en contra de los investigadores que atenten contra la normativa vigente, en el país no se ha estudiado la aplicabilidad de esta normativa. Tampoco hay una regulación eficiente del bienestar animal en la tenencia para fines de investigación científica.

El transporte animal debe realizarse en horas donde la radiación solar sea baja, manteniendo una manipulación mínima que no afecte el sistema hipotálamo-hipofisiario-adrenal, según Arencibia (2019) y Olfe et al. (2010). Una vez finalizado el período de cuarentena, F. Fuentes & Mendoza (2008) y Tiupul & Arévalo (2021) establecen que se debe diferenciar el macroambiente (condiciones de un laboratorio en la USFQ a T° 13,6 y humedad del 73%) del microambiente (jaula y lecho).

La información que aportan los autores Gaskill et al. (2012), Gaskill et al. (2013) y Hess et al. (2008) es que la jaula debe ser rígida, con un área mínima de 100cm² por ratón y que cuente con lecho sin polvillo. El manejo poblacional es estudiado por Canadian Council on Animal Care (2019), Phifer-Rixey & Nachman (2015), Kallnik et al. (2007), National Research Council of the National Academies (2011), Panksepp & Lahvis (2007), Van Loo et al. (2007), Blankenberger et al. (2018), Kerckmar et al. (2011) y Nicholson et al. (2009), determinando que los ratones son animales muy sociales y deben acomodarse en grupos de 4 a 5 individuos del mismo sexo, con la posibilidad de relocalización debido a agresividad jerárquica.

Con respecto al alimento, por Canadian Council on Animal Care (2019) recomienda seguir la dieta AIN-93 y dejar la comida y agua ad libitum en contenedores. Bailoo et al. (2018), National Research Council of the National Academies (2011), Horizny (2019) y Sztainberg & Chen (2010) basan un buen manejo en el enriquecimiento ambiental, ya sea físico o sensorial, disminuyendo así las estereotipias, depresión y ansiedad.

La temperatura ideal dentro del microambiente según Fischer et al., (2018), Gaskill et al. (2009), Keijer et al. (2019), Gonder & Laber (2007), Rosenbaum et al. (2009), York et al. (2012), Nicolaus et al. (2016) y Ward et al. (2009), debe oscilar entre los 26 y 34°C debido a que temperaturas menores interfieren en la tasa metabólica. Debe haber un flujo constante de aire que previene contaminación ambiental y mantenga niveles óptimos de humedad, tampoco deben colocarse jaulas por encima de otras debido a que las jaulas en posiciones bajas concentran mayor humedad.

Fierro (2010), F. Fuentes & Mendoza (2008), Fujioka et al. (2011) y Sherwin (2007), sugieren que la iluminación óptima es un rango de 13 a 323 luxes a un metro del piso, para evitar retinopatías, en fotoperíodos de 12 horas. Para finalizar la normativa de alojamiento, Canadian Council on Animal Care (2019), Rasmussen et al. (2009), Lynch

et al. (2010), Reynolds et al. (2018) y Weinheimer-Haus et al. (2014), aseguran que el ruido y vibración causados por actividades humanas producen estrés y posibles problemas de reproducción y comportamiento, por lo que el nivel máximo de decibeles debe ser de 85 dB y las vibraciones se evitan, a no ser que sean utilizadas de forma terapéutica.

La bioseguridad se mantiene con cambios rutinarios del lecho y lavados de las jaulas cada 2 semanas, en base a estudios de Montes G. (2018) y National Research Council of the National Academies (2011). La medicina preventiva, según Suckow et al. (2021) evita la propagación de enfermedades bacterianas, virales y parasitarias comunes, descritas por Canadian Council on Animal Care (2019) y Pritchett-Corning et al. (2009).

El Capítulo 3 “Procedimientos en Fase de Experimentación” se divide en las secciones de “Bienestar animal”, “Reconocimiento del dolor y angustia”, “Manipulación del animal” y “Anestesia y analgesia”. El propósito de esta sección es que las condiciones de manejo establecidas amparen tanto al bienestar animal como a la producción de resultados fiables. Las referencias de AGROCALIDAD (2018) y Spangenberg & Keeling (2016) fueron las más citadas, esto debido a que la primera fuente consta de la normativa de manejo vigente en Ecuador y la segunda fuente es un artículo científico que mide el bienestar animal en base a parámetros conductuales. Ambas fuentes mencionan el concepto de las 3R como una premisa para mejorar las practicas científicas. Bailoo et al. (2018), Gaskill, Karas, et al., (2013), Leach et al. (2008), Leach & Main (2008) y Meagher, 2009), concluyen que el bienestar animal se evidencia con los comportamientos de anidación, acicalamiento y socialización. Makowska et al. (2019), y Hobbiesiefken et al. (2021) proponen etogramas para ver la variabilidad conductual de un ratón (ANEXO 3).

El reconocimiento del dolor y la angustia según AGROCALIDAD (2018) es una función de los profesionales encargados de los proyectos de investigación, pues están obligados a velar por el bienestar animal. Las molestias menores, moderadas o severas propuestas por Fierro (2010) afectan al animal y provocan comportamientos de huida o retirada, agresión, estereotipias y falta de actividad, descritos por Maschi (2017), Spangenberg & Keeling (2016) y Turner et al., (2019). La modificación en las expresiones faciales es un indicador de dolor según (Langford et al., 2010).

La manipulación del animal debe ser libre de estrés, por lo que F. Fuentes & Mendoza (2008) y Neely et al. (2018) únicamente recomiendan la manipulación por medio de túneles. Clarkson et al. (2018), Gouveia & Hurst (2019), Hurst & West (2010) y Vargas et al. (2018) añaden que el investigador debe tener un acercamiento paulatino hacia el animal, de modo que se familiarice y la aproximación sea voluntaria.

Los protocolos de anestesia inyectable e inhalada, analgesia y antibioterapia quirúrgica (ANEXO 5) deben reducir el dolor y brindar relajación, hipnosis y amnesia, según Ewald et al. (2011), Gargiulo et al. (2012), Jonckers et al. (2014) y Zheng et al. (2013). Previo a la realización de estos procedimientos, es importante considerar el estado reproductivo y fisiológico del animal.

El Capítulo 4 “Criterios de Punto Final” se organiza en las secciones de “Eutanasia” y “Relocalización”. Este capítulo se redacta con el propósito de asegurar que el destino del animal, una vez finalizado el estudio, sea el ideal basado en la normativa de sanidad vigente en el país. Las fuentes bibliográficas de este capítulo se utilizaron en igual frecuencia. Los métodos de eutanasia deben asegurar una muerte libre de estrés, por lo que Hawkins et al. (2016) y Leary & American Veterinary Medical Association (2020) recomiendan combinaciones de barbitúricos, anestésicos disociativos y α 2-adrenérgicos para el procedimiento. Boivin et al. (2017), Carbone et al. (2012) y Valentine et al. (2012) complementan esta información al señalar que métodos físicos dependen de la capacidad del personal, por lo que no son procesos ideales. La relocalización como mascotas, forraje vivo en zoológicos o como modelos de experimentación depende de las condiciones de salud del animal, y la institución es responsable de mantener un seguimiento, afirman Canadian Council on Animal Care (2019) y National Research Council of the National Academies (2011). Las fuentes con respecto a la relocalización de los animales son limitadas, debido a que la principal recomendación posterior al estudio es la eutanasia.

CONCLUSIONES

En conclusión, la redacción de un protocolo de manejo fue posible gracias a la revisión y sistematización de información. Los ratones de la cepa BALB/c, al ser de las cepas genéricas más utilizadas en la investigación actual, cuentan con diversos estudios que se acoplaron a cada uno de los temas de los capítulos planteados. La literatura

basada en anatomía, fisiología y etología permite satisfacer las necesidades del animal recreando las condiciones naturales a nivel de laboratorio. Fue posible establecer pautas para asegurar el bienestar animal y la replicación de resultados fiables.

Este protocolo de manejo estándar debe ser modificado por el investigador que lo utilice para que se acople a su estudio. Es indispensable un análisis espacial previo al estudio, además de una planificación para un manejo óptimo de los animales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGROCALIDAD. (2018). *Resolución XX*. Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario. <https://aportecivico.gobiernoelectronico.gob.ec/system/documents/attachments/000/000/047/original/315735fa93f82ce721f70908338a6c6b59ac2ea5.pdf>

Arencibia, D. (2010). Important considerations about rats and mice quarantine as experimental animal models in toxicology. *Revista Veterinaria Argentina*, 27, 1-23.

Asaba, A., Hattori, T., Mogi, K., & Kikusui, T. (2014). Sexual attractiveness of male chemicals and vocalizations in mice. *Frontiers in Neuroscience*, 8. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnins.2014.00231>

Bailoo, J. D., Murphy, E., Boada-Saña, M., Varholick, J. A., Hintze, S., Baussière, C., Hahn, K. C., Göpfert, C., Palme, R., Voelkl, B., & Würbel, H. (2018). Effects of Cage Enrichment on Behavior, Welfare and Outcome Variability in Female Mice. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 12. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnbeh.2018.00232>

Blankenberger, W. B., Weber, E. M., Chu, D. K., Geronimo, J. T., Theil, J., Gaskill, B. N., Pritchett-Corning, K., Albertelli, M. A., Garner, J. P., & Ahloy-Dallaire, J. (2018). Breaking up is hard to do: Does splitting cages of mice reduce aggression? *Applied Animal Behaviour Science*, 206, 94-101. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2018.06.003>

Boivin, G. P., Hickman, D. L., Creamer-Hente, M. A., Pritchett-Corning, K. R., & Bratcher, N. A. (2017). Review of CO2 as a Euthanasia Agent for Laboratory Rats

and Mice. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 56(5), 9.

Caligioni, C. S. (2009). Assessing Reproductive Status/Stages in Mice. *Current Protocols in Neuroscience*, 48(1). <https://doi.org/10.1002/0471142301.nsa04is48>

Canadian Council on Animal Care. (2019). *CCAC guidelines: Mice*. Canadian Council on Animal Care.

Carbone, L., Carbone, E. T., Yi, E. M., Bauer, D. B., Lindstrom, K. A., Parker, J. M., Austin, J. A., Seo, Y., Gandhi, A. D., & Wilkerson, J. D. (2012). Assessing Cervical Dislocation as a Humane Euthanasia Method in Mice. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 51(3), 5.

Clarkson, J. M., Dwyer, D. M., Flecknell, P. A., Leach, M. C., & Rowe, C. (2018). Handling method alters the hedonic value of reward in laboratory mice. *Scientific Reports*, 8(1), 2448. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20716-3>

Ewald, A. J., Werb, Z., & Egeblad, M. (2011). Monitoring of Vital Signs for Long-Term Survival of Mice under Anesthesia. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2011(2), pdb.prot5563. <https://doi.org/10.1101/pdb.prot5563>

Farias Santos, J., Suruagy Amaral, M., Lima Oliveira, S., Porto Barbosa, J., Rego Cabral-Jr, C., Sofia Melo, I., Bezerra Bueno, N., Duarte Freitas, J., Goulart Santana, A., & Rocha Ataíde, T. (2015). La ingesta de la dieta estándar ain-93 induce esteatosis hepática con alterado perfil de ácidos grasos en ratones wistar. *Nutrición Hospitalaria*, 31(5), 2140-2146. <https://doi.org/10.3305/nh.2015.31.5.8597>

Fierro, Á. (2010). *Determinación de Buenas Prácticas de Producción de ratones (Mus musculus) en el Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia*. 178.

Fischer, A. W., Cannon, B., & Nedergaard, J. (2018). Optimal housing temperatures for mice to mimic the thermal environment of humans: An experimental study. *Molecular Metabolism*, 7, 161-170. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2017.10.009>

Fuentes, F., & Mendoza. (2008). *Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: Ratón*. Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.

Fuentes, M., Acosta, L., & Rodríguez, P. (2008). *Perfil lipídico, protéico y glicemia en ratones NMRI, C57BL/6 y Balb/c producidos en la UCLA. Venezuela. 13*, 92-103.

Fujioka, A., Fujioka, T., Tsuruta, R., Izumi, T., Kasaoka, S., & Maekawa, T. (2011). Effects of a constant light environment on hippocampal neurogenesis and memory in mice. *Neuroscience Letters*, 488(1), 41-44. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2010.11.001>

Gargiulo, S., Greco, A., Gramanzini, M., Esposito, S., Affuso, A., Brunetti, A., & Vesce, G. (2012). Mice Anesthesia, Analgesia, and Care, Part I: Anesthetic Considerations in Preclinical Research. *ILAR Journal*, 53(1), E55-E69. <https://doi.org/10.1093/ilar.53.1.55>

Gaskill, B. N., Gordon, C. J., Pajor, E. A., Lucas, J. R., Davis, J. K., & Garner, J. P. (2012). Heat or Insulation: Behavioral Titration of Mouse Preference for Warmth or Access to a Nest. *PLOS ONE*, 7(3), e32799. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032799>

Gaskill, B. N., Gordon, C. J., Pajor, E. A., Lucas, J. R., Davis, J. K., & Garner, J. P. (2013). Impact of nesting material on mouse body temperature and physiology. *Physiology & Behavior*, 110-111, 87-95. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2012.12.018>

Gaskill, B. N., Karas, A. Z., Garner, J. P., & Pritchett-Corning, K. R. (2013). Nest Building as an Indicator of Health and Welfare in Laboratory Mice. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, 82, e51012. <https://doi.org/10.3791/51012>

Gaskill, B. N., Rohr, S. A., Pajor, E. A., Lucas, J. R., & Garner, J. P. (2009). Some like it hot: Mouse temperature preferences in laboratory housing. *Applied Animal Behaviour Science*, 116(2), 279-285. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2008.10.002>

Gonder, J. C., & Laber, K. (2007). A Renewed Look at Laboratory Rodent Housing and Management. *ILAR Journal*, 48(1), 29-36. <https://doi.org/10.1093/ilar.48.1.29>

Gouveia, K., & Hurst, J. L. (2019). Improving the practicality of using non-aversive handling methods to reduce background stress and anxiety in laboratory mice. *Scientific Reports*, 9(1), 20305. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56860-7>

Hawkins, P., Prescott, M. J., Carbone, L., Dennison, N., Johnson, C., Makowska, I. J., Marquardt, N., Readman, G., Weary, D. M., & Golledge, H. D. R. (2016). A Good Death? Report of the Second Newcastle Meeting on Laboratory Animal Euthanasia. *Animals*, 6(9), 50. <https://doi.org/10.3390/ani6090050>

Hess, S. E., Rohr, S., Dufour, B. D., Gaskill, B. N., Pajor, E. A., & Garner, J. P. (2008). Home Improvement: C57BL/6J Mice Given More Naturalistic Nesting Materials Build Better Nests. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 47(6), 25-31.

Hobbiesiefken, U., Mieske, P., Lewejohann, L., & Diederich, K. (2021). Evaluation of different types of enrichment—Their usage and effect on home cage behavior in female mice. *PLOS ONE*, 16(12), e0261876. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0261876>

Horizny, C. (2019). *The Benefits of Environmental Enrichment for Laboratory Mice*. <https://www.taconic.com/taconic-insights/animal-welfare/enrichment-for-mice.html>

Huerkamp, M. J., & Pullium, J. K. (2009). Chapter 26—Quarantine facilities and operations. En J. R. Hessler & N. D. M. Lehner (Eds.), *Planning and Designing Research Animal Facilities* (pp. 365-376). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-369517-8.00026-8>

Hurst, J. L., & West, R. S. (2010). Taming anxiety in laboratory mice. *Nature Methods*, 7(10), 825-826. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1500>

Jonckers, E., Delgado y Palacios, R., Shah, D., Guglielmetti, C., Verhoye, M., & Van der Linden, A. (2014). Different anesthesia regimes modulate the functional connectivity outcome in mice. *Magnetic Resonance in Medicine*, 72(4), 1103-1112. <https://doi.org/10.1002/mrm.24990>

Jørgensen, B. P., Hansen, J. T., Krych, L., Larsen, C., Klein, A. B., Nielsen, D. S., Josefsen, K., Hansen, A. K., & Sørensen, D. B. (2014). A Possible Link between Food and Mood: Dietary Impact on Gut Microbiota and Behavior in BALB/c Mice. *PLOS ONE*, 9(8), e103398. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103398>

Kallnik, M., Elvert, R., Ehrhardt, N., Kissling, D., Mahabir, E., Welzl, G., Faus-Kessler, T., de Angelis, M. H., Wurst, W., Schmidt, J., & Hölter, S. M. (2007). Impact

of IVC housing on emotionality and fear learning in male C3HeB/FeJ and C57BL/6J mice. *Mammalian Genome*, 18(3), 173-186. <https://doi.org/10.1007/s00335-007-9002-z>

Keijer, J., Li, M., & Speakman, J. R. (2019). What is the best housing temperature to translate mouse experiments to humans? *Molecular Metabolism*, 25, 168-176. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2019.04.001>

Kercmar, J., Büdefeld, T., Grgurevic, N., Tobet, S. A., & Majdic, G. (2011). Adolescent social isolation changes social recognition in adult mice. *Behavioural Brain Research*, 216(2), 647-651. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2010.09.007>

Klurfeld, D. M., Gregory, J. F., III, & Fiorotto, M. L. (2021). Should the AIN-93 Rodent Diet Formulas be Revised? *The Journal of Nutrition*, 151(6), 1380-1382. <https://doi.org/10.1093/jn/nxab041>

Langford, D. J., Bailey, A. L., Chanda, M. L., Clarke, S. E., Drummond, T. E., Echols, S., Glick, S., Ingrao, J., Klassen-Ross, T., LaCroix-Fralish, M. L., Matsumiya, L., Sorge, R. E., Sotocinal, S. G., Tabaka, J. M., Wong, D., van den Maagdenberg, A. M. J. M., Ferrari, M. D., Craig, K. D., & Mogil, J. S. (2010). Coding of facial expressions of pain in the laboratory mouse. *Nature Methods*, 7(6), 447-449. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1455>

Leach, M., & Main, D. (2008). An assessment of laboratory mouse welfare in UK animal units. *Animal Welfare*, 17(2), 171-187.

Leach, M., Thornton, P., & Main, D. (2008). Identification of appropriate measures for the assessment of laboratory mouse welfare. *Animal Welfare*, 17(2), 161-170.

Leary, S. L. & American Veterinary Medical Association. (2020). *AVMA guidelines for the euthanasia of animals: 2020 edition*. <https://www.avma.org/sites/default/files/2020-02/Guidelines-on-Euthanasia-2020.pdf>

Lynch, M. A., Brodt, M. D., & Silva, M. J. (2010). Skeletal effects of whole-body vibration in adult and aged mice. *Journal of Orthopaedic Research*, 28(2), 241-247. <https://doi.org/10.1002/jor.20965>

Makowska, I. J., Franks, B., El-Hinn, C., Jorgensen, T., & Weary, D. M. (2019). Standard laboratory housing for mice restricts their ability to segregate space into clean

and dirty areas. *Scientific Reports*, 9(1), 6179. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42512-3>

Maschi, F. A. (2017). *El efecto del enriquecimiento ambiental sobre la variabilidad de parámetros fisiológicos y conductuales en ratones de laboratorio* [Doctor en Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata]. <https://doi.org/10.35537/10915/63094>

Meagher, R. K. (2009). Observer ratings: Validity and value as a tool for animal welfare research. *Applied Animal Behaviour Science*, 119(1), 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2009.02.026>

Montes García, E. S. (2018). *DISEÑO DE PROTOCOLO PARA EL MANEJO DE RATONES CEPA C57BL/6* [Technical Report]. Instituto Tecnológico de Colima. <https://dspace.itcolima.edu.mx/xmlui/handle/123456789/809>

National Research Council of the National Academies. (2011). *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals: Eighth Edition* (8.^a ed.). The National Academies. <https://doi.org/10.17226/12910>

Neely, C., Lane, C., Torres, J., & Flinn, J. (2018). The Effect of Gentle Handling on Depressive-Like Behavior in Adult Male Mice: Considerations for Human and Rodent Interactions in the Laboratory. *Behavioural Neurology*, 2018, e2976014. <https://doi.org/10.1155/2018/2976014>

Nicholson, A., Malcolm, R. D., Russ, P. L., Cough, K., Touma, C., Palme, R., & Wiles, M. V. (2009). The Response of C57BL/6J and BALB/cJ Mice to Increased Housing Density. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 48(6), 740-753.

Nicolaus, M. L., Bergdall, V. K., Davis, I. C., & Hickman-Davis, J. M. (2016). Effect of Ventilated Caging on Water Intake and Loss in 4 Strains of Laboratory Mice. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 55(5), 9.

Olfe, J., Domanska, G., Schuett, C., & Kiank, C. (2010). Different stress-related phenotypes of BALB/c mice from in-house or vendor: Alterations of the sympathetic and HPA axis responsiveness. *BMC Physiology*, 10(1), 2. <https://doi.org/10.1186/1472-6793-10-2>

Panksepp, J. B., & Lahvis, G. P. (2007). Social reward among juvenile mice. *Genes, Brain and Behavior*, 6(7), 661-671. <https://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2006.00295.x>

Park, H., Kim, M., Kwon, G. T., Lim, D. Y., Yu, R., Sung, M.-K., Lee, K. W., Daily III, J. W., & Park, J. H. Y. (2012). A high-fat diet increases angiogenesis, solid tumor growth, and lung metastasis of CT26 colon cancer cells in obesity-resistant BALB/c mice. *Molecular Carcinogenesis*, 51(11), 869-880. <https://doi.org/10.1002/mc.20856>

Pellizzon, M. A., & Ricci, M. R. (2020). Choice of Laboratory Rodent Diet May Confound Data Interpretation and Reproducibility. *Current Developments in Nutrition*, 4(4), nzaa031. <https://doi.org/10.1093/cdn/nzaa031>

Pessini, P. G. dos S., Knox de Souza, P. R., Chagas, C. dos S., Sampaio, E. G., Neves, D. S., Petri, G., Fonseca, F. L. A., & da Silva, E. B. (2020). Hematological reference values and animal welfare parameters of BALB/C-FMABC (*Mus musculus*) inoculated with Ehrlich tumor kept in the vivarium at ABC Medical School. *Animal Models and Experimental Medicine*, 3(1), 32-39. <https://doi.org/10.1002/ame2.12099>

Phifer-Rixey, M., & Nachman, M. W. (2015). Insights into mammalian biology from the wild house mouse *Mus musculus*. *eLife*, 4, e05959. <https://doi.org/10.7554/eLife.05959>

Pritchett-Corning, K. R., Cosentino, J., & Clifford, C. B. (2009). Contemporary prevalence of infectious agents in laboratory mice and rats. *Laboratory Animals*, 43(2), 165-173. <https://doi.org/10.1258/la.2008.008009>

Rasmussen, S., Glickman, G., Norinsky, R., Quimby, F. W., & Tolwani, R. J. (2009). Construction Noise Decreases Reproductive Efficiency in Mice. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 48(4), 363-370.

Reeves, P. G. (1997). Components of the AIN-93 Diets as Improvements in the AIN-76A Diet. *The Journal of Nutrition*, 127(5), 838S-841S. <https://doi.org/10.1093/jn/127.5.838S>

Reynolds, R. P., Li, Y., Garner, A., & Norton, J. N. (2018). Vibration in mice: A review of comparative effects and use in translational research. *Animal Models and Experimental Medicine*, 1(2), 116-124. <https://doi.org/10.1002/ame2.12024>

Rosenbaum, M. D., VandeWoude, S., & Johnson, T. E. (2009). Effects of Cage-Change Frequency and Bedding Volume on Mice and Their Microenvironment. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 48(6), 11.

Santos, E. W., Oliveira, D. C. de, Hastreiter, A., Silva, G. B. da, Beltran, J. S. de O., Tsujita, M., Crisma, A. R., Neves, S. M. P., Fock, R. A., & Borelli, P. (2016). Hematological and biochemical reference values for C57BL/6, Swiss Webster and BALB/c mice. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 53(2), 138-145. <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.v53i2p138-145>

Schwiebert, R. (2007). *The Laboratory Mouse*. Animal Holding Unit of National University of Singapore. <http://library01.forbiddenmousecity.com/L013.pdf>

Secretaria General del Concejo Metropolitano De Quito. (2020). *Ordenanza Metropolitana N.019*. Distrito Metropolitano de Quito.

Sherwin, C. (2007). *Validating refinements to laboratory housing: Asking the animals*. NC3Rs #12.

Spangenberg, E. M., & Keeling, L. J. (2016). Assessing the welfare of laboratory mice in their home environment using animal-based measures – a benchmarking tool. *Laboratory Animals*, 50(1), 30-38. <https://doi.org/10.1177/0023677215577298>

Stechman, M. J., Ahmad, B. N., Loh, N. Y., Reed, A. A. C., Stewart, M., Wells, S., Hough, T., Bentley, L., Cox, R. D., Brown, S. D. M., & Thakker, R. V. (2010). Establishing normal plasma and 24-hour urinary biochemistry ranges in C3H, BALB/c and C57BL/6J mice following acclimatization in metabolic cages. *Laboratory Animals*, 44(3), 218-225. <https://doi.org/10.1258/la.2010.009128>

Suckow, M. A., Danneman, P., & Brayton, C. (2001). *The laboratory mouse*. CRC Press.

Sztainberg, Y., & Chen, A. (2010). An environmental enrichment model for mice. *Nature Protocols*, 5(9), 1535-1539. <https://doi.org/10.1038/nprot.2010.114>

Tiupul, P., & Arévalo, M. (2021). *Estación Agrometeorológica—Escuela Superior Politécnica de Chimborazo*. <https://www.espoch.edu.ec/index.php/estaci%C3%B3n-meteorol%C3%B3gica.html>

Turner, P. V., Pang, D. S., & Lofgren, J. L. (2019). A Review of Pain Assessment Methods in Laboratory Rodents. *Comparative Medicine*, 69(6), 451-467. <https://doi.org/10.30802/AALAS-CM-19-000042>

Valentine, H., Williams, W. O., & Maurer, K. J. (2012). Sedation or Inhalant Anesthesia before Euthanasia with CO₂ Does Not Reduce Behavioral or Physiologic Signs of Pain and Stress in Mice. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 51(1), 8.

Van Loo, P. L. P., Kuin, N., Sommer, R., Avsaroglu, H., Pham, T., & Baumans, V. (2007). Impact of «living apart together» on postoperative recovery of mice compared with social and individual housing. *Laboratory Animals*, 41(4), 441-455. <https://doi.org/10.1258/002367707782314328>

Vargas, B., Ambriz, D., Navarro, M. del C., Trejo, A., Rodríguez, G., & González, M. del R. (2018). *Manejo de animales del Bioterio de la UAM-I*. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa. <http://publicacionescbs.izt.uam.mx/DOCS/BIOTERIO.pdf>

Ward, G. M., Cole, K., Faerber, J., & Hankenson, F. C. (2009). Humidity and Cage and Bedding Temperatures in Unoccupied Static Mouse Caging after Steam Sterilization. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 48(6), 6.

Weinheimer-Haus, E. M., Judex, S., Ennis, W. J., & Koh, T. J. (2014). Low-Intensity Vibration Improves Angiogenesis and Wound Healing in Diabetic Mice. *PLOS ONE*, 9(3), e91355. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091355>

Xu, M., Zhao, M., Yang, R., Zhang, Z., Li, Y., & Wang, J. (2013). Effect of dietary nucleotides on immune function in Balb/C mice. *International Immunopharmacology*, 17(1), 50-56. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2013.04.032>

York, J. M., McDaniel, A. W., Blevins, N. A., Guillet, R. R., Allison, S. O., Cengel, K. A., & Freund, G. G. (2012). Individually ventilated cages cause chronic low-grade hypoxia impacting mice hematologically and behaviorally. *Brain, Behavior, and Immunity*, 26(6), 951-958. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2012.04.008>

Zheng, H., Dong, Y., Xu, Z., Crosby, G., Culley, D. J., Zhang, Y., & Xie, Z. (2013). Sevoflurane Anesthesia in Pregnant Mice Induces Neurotoxicity in Fetal and

Offspring Mice. *Anesthesiology*, 118(3), 516-526.
<https://doi.org/10.1097/ALN.0b013e3182834d5d>

PROTOCOLO DE MANEJO

BIOLOGÍA DE LA ESPECIE

HISTORIA NATURAL DE LA CEPA BALB/C

El ratón común es una especie extensamente utilizada como un modelo de estudio de mamíferos en distintas enfermedades que pueden ser tanto metabólicas neurológicas, inmunológicas, entre otros. Las líneas genéticas que existen en la actualidad tienen su origen en 1900. Muchas de estas cepas han sido reproducidas mediante endogamia y han sido especializadas para distintos tipos de estudios, es decir, que estos ratones han sido seleccionados o modificados genéticamente para poder adaptarse a un estudio en específico. Las cepas actuales derivan de 3 especies de ratones las cuales son: *Mus musculus castaneus*, *Mus musculus domesticus* y *Mus musculus musculus* (Phifer-Rixey & Nachman, 2015).

Las cepas de endogámicas -también conocidas como cepas consanguíneas, endocriadas o inbreed strain- son cepas que se obtienen de la cruce entre hermanos y hermanas por más de 20 generaciones. Esta reproducción es sistemática y sin interrupciones, por lo que las cepas provienen de un único par de progenitores y su población, como resultado, es homogénea y estable. El fenotipo que presentan es idéntico entre ellos. La cepa BALB/c de fenotipo albino es utilizada para distintos modelos de estudios, debido a que tiene una alta producción de anticuerpos y resistencia a infecciones. Variables de esta cepa como BALB/c Nude no pueden crear células T, debido a que no poseen timo. Esta cepa inmunocomprometida se usa como un modelo de estudio tumoral (Vargas et al., 2018).

El uso de cepas isogénicas de ratones beneficia a la experimentación debido a que elimina posible variabilidad genética entre los animales. Los experimentos con cepas experimentales específicas necesitan menos animales para alcanzar valores estadísticos reales. La cepa BALB/c presentan una baja incidencia de tumores mamarios y quistes ováricos, sin embargo, desarrollan otros tipo de tumores como neoplasias reticulares, tumores pulmones y renales (Pessini et al., 2020).

ANATOMÍA

Las características anatómicas más relevantes del ratón BALB/c incluyen las siguientes, según los autores (Suckow et al., 2001; Vargas et al., 2018):

- Fórmula dentaria (1/1 I, 0/0 C, 0/0 P, 3/3 M) con incisivos en constante crecimiento, que pueden causar problemas de mala acción si no se controla.
- Fórmula vertebral C7, T13, L6, S4, C28. Las costillas craneales, hasta el par 7 se consideran costillas verdaderas y articulan con el esternón.
- Miembro anterior y posterior con 5 dígitos respectivamente.
- Hembra posee 5 pares de pezones en el tórax y abdomen.
- Sistema gastrointestinal: consiste de esófago, estómago duodeno yeyuno ciego y ciego ciego, colon y recto. Los ratones no poseen apéndice
- Sistema genitourinario: el macho posee *os penis* y glándulas prepucales. La hembra posee un útero con 2 cuernos como y un cuerpo. El dimorfismo sexual se da por el saco escrotal de los machos.
- Sistema respiratorio: pulmón izquierdo con un lóbulo, pulmón derecho con cuatro lóbulos (superior, medial, poscaval e inferior).
- Albinismo.
- Largo total entre 130 a 198 mm desde la punta de la nariz a la punta de la cola. Largo de la cola entre 63 y 102mm.

PARÁMETROS FISIOLÓGICOS

Los parámetros fisiológicos de los ratones *Mus musculus* tienden a ser parecidos entre sí, no obstante, es importante considerar que la cepa BALB/c presenta gran variabilidad dependiendo de las condiciones del lugar de alojamiento, edad, sexo, dieta, manejo, condiciones sanitarias y ambientales, entre otros. El tiempo promedio de vida de estos animales es de 2 a 3 años. Las constantes fisiológicas se muestran a continuación, recopiladas de dos autores (Suckow et al., 2001; Vargas et al., 2018).

Tabla 5. Parámetros fisiológicos estándar en ratones.

Fuente		(Vargas et al., 2018)	(Suckow et al., 2001)
Parámetro	Unidad	Rango	Rango
Temperatura corporal	°C	35.5 - 38	36.5 - 38
Frecuencia respiratoria	respiraciones/minuto	60 - 320	80 - 230
Frecuencia cardíaca	latidos/minuto	325 - 780	500 - 600

Descripción: Tabla comparativa de los autores Vargas et al. (2018) y Suckow et al. (2001) con respecto a los valores de parámetros fisiológicos estándar como temperatura corporal, frecuencia cardíaca y frecuencia respiratoria.

Los valores bioquímicos pueden brindar una perspectiva general del estado de órganos como hígado, páncreas y riñones. La siguiente tabla recopila valores de referencia de ciertos indicadores en plasma sanguíneo, según los autores (M. Fuentes et al., 2008; Stechman et al., 2010).

Tabla 6. Valores normales en química sanguínea de ratones.

Fuente		(M. Fuentes et al., 2008)		(Stechman et al., 2010)		
Parámetro	Unidad	Valor referencia	Rango (+/-)	Valor referencia	Rango (+/-)	Promedio
Proteínas totales	g/dl	4.6	0.7	5.4	1.1	5
Albumina	g/dl	2.8	0.9	3.3	1.4	3.05
Glucosa	mg/dl	171.6	54.3	192	86	181.8
Colesterol	mg/dl	71.7	12.7	118.5	47.5	95.1
Triglicéridos	mg/dl	86.4	32.8	117.5	46.5	101.95
Urea	mg/dl	23.4	3.8	26.5	7.5	24.95
Creatinina	mg/dl	0.3	0.1	0.6	0.2	0.45

Descripción: Tabla comparativa de los autores M. Fuentes et al. (2008) y Stetchamn et al. (2010) con respecto a los valores en analitos de química sanguínea. Contiene un promedio de valores obtenidos de ambas fuentes.

La orina también es un indicador importante de la correcta funcionalidad del riñón y el filtrado glomerular. La orina debe ser incolora o ligeramente amarilla, con una densidad de 1.030 y pH de 5. Sedimento anormal en la orina o crecimiento bacteriano son indicadores de posibles infecciones o formaciones de urolitos. El volumen producido por un ratón en un total de 24 horas es entre 0.5 a 2.5 ml (Suckow et al., 2001).

CICLO REPRODUCTIVO

La biología reproductiva del ratón favorece a la experimentación en cepas de laboratorio. El tiempo de gestación de los ratones es corto, y comprende un periodo aproximado de tres semanas. La madurez sexual se alcanza entre las semanas 6 y 8 de vida. En condiciones de laboratorio, la madurez sexual puede atrasarse si los períodos de luz y oscuridad no son los adecuados, pudiendo darse entre la semana 9 y 11. Las hembras pueden reproducirse durante todo el año si es que las condiciones ambientales y el suplemento alimenticio es suficiente, mientras que en su estado natural las hembras se reproducen estacionalmente, teniendo así crías una o dos veces al año. El número de crías promedio que tiene una hembra en cada gestación es de 10 a 12 crías, las cuales destetan entre el día 21 y 28 (Phifer-Rixey & Nachman, 2015; Suckow et al., 2001).

El ciclo estral en los ratones dura de 4 a 5 días. Este ciclo, como en todos los mamíferos, depende de la función del eje hipotálamo-hipófisis. En las hembras el periodo de pubertad empieza debido a un aumento en la secreción de estradiol, aunque esto puede ser replicado en laboratorio al inyectar estradiol de forma externa. El pico de estradiol causa un proceso llamado “vaginal opening”, el cuál es un indicador físico en los ratones del comienzo de la pubertad mediante el proceso de cornificación del epitelio vaginal. Se da diez días antes de la primera ovulación y este proceso puede observarse a simple vista al examinar la vulva a partir de los 26 días de edad (Caligioni, 2009).

El proceso reproductivo esta estimulado por varios factores. Comenzando por las feromonas, estos son químicos que se secretan especialmente en la orina. Las feromonas de los machos pueden llevar a la sincronización de estro en las hembras y acelerar el proceso de pubertad. Además, mediante estas feromonas las hembras pueden detectar el estatus social del macho, definiendo si es o no dominante en base a sus niveles de agresividad y territorialidad. La subordinación social suprime la función gonadal en machos, ya que las feromonas se producen dependiendo del nivel de testosterona y los machos dominantes tienen más testosterona que los sumisos. Los machos también realizan vocalizaciones de cortejo ultrasónicas, cuando se encuentran en presencia de hembras o cuando detectan feromonas en la orina de hembras en estro. Debido a esto, las hembras eligen a su pareja en base a estímulos olfatorios y auditivos (Asaba et al., 2014).

Los efectos que pueden causar las feromonas en el ciclo reproductivo de las hembras, según (Schwiebert, 2007) son los siguientes:

- *Efecto Bruce*: Cuando una hembra que copula con un macho se aloja con un macho distinto hasta 24 horas después de la cópula, la implantación se inhibe hasta en el 30% de los casos. Las hembras vuelven al estro en 4 a 5 días. Los machos castrados no producen este efecto.
- *Efecto Lee-Boot*: Cuando se alojan grupos que incluyen 4 o más hembras, aumenta la incidencia de pseudogestaciones que duran entre 10 a 13 días. En grupos de 30 o más hembras se induce anestro.
- *Efecto Whitten*: Cuando una hembra se aloja con un grupo de machos después de haber estado alojada solo con hembras por un período largo de tiempo, esta copula con un macho al tercer día. En otros casos la copula se da desde el primer el cuarto día.

PESO Y NECESIDADES NUTRICIONALES

El peso promedio de un ratón al nacimiento es 0.5 a 1.5 gramos. En el caso de los adultos, las hembras pesan entre 30 y 35 gramos mientras que los machos tienen un rango de 38 a 42 gramos. La dieta afecta en el fenotipo de los roedores. La variabilidad de la dieta provoca dificultad en la replicabilidad de los estudios. Es importante que cuando se quiera reproducir un estudio se tomen en cuenta no solo factores ambientales sino nutricionales, considerando formulación completa y compañía de ser necesario. La microbiota normal en estos animales depende de factores relacionados a alojamiento, ambiente, tratamientos previos, procedimientos estresantes, edad, género, pero sobre todo de la dieta, por lo que es un factor importante (Pellizzon & Ricci, 2020; Phifer-Rixey & Nachman, 2015; Vargas et al., 2018).

El ratón común posee una dieta omnívora que incluye granos semillas e incluso insectos. Los animales de laboratorio han sido adaptados para el manejo experimental por parte del humano, lo que ha llevado a que su dieta sea más flexible. El incremento en el uso de animales de experimentación llevó a que se establezcan estándares de nutrientes necesarios para roedores de laboratorio. Actualmente, la dieta estándar es conocida como AIN-93, con la variante AIN-93G (crecimiento) y AIN-93M (mantenimiento adulto). Los componentes nutricionales de esta tabla se pueden

encontrar en el apéndice ANEXO 1. La dieta AIN-93 fue formulada hace casi treinta años, por lo que investigadores como (Klurfeld et al., 2021) han mostrado inquietud con respecto a valores nutricionales especialmente de carbohidratos y grasas. Dicho esto, existen dietas válidas para el mantenimiento de ratones basadas en otros alimentos (Reeves, 1997).

Las dietas para roedores de modelos de experimentación pueden ser dietas basadas en granos o dietas purificadas. Las dietas basadas en granos se forman por la mezcla de granos de cereal como maíz, avena, soya, entre otros. Estas dietas se formulan con ingredientes naturales, por lo que en el proceso de manufactura pueden perderse nutrientes. Además estas dietas son mas propensas a los contaminantes artificiales como pesticidas, GMOs, metales pesados y contaminantes naturales como endotoxinas bacterianas. Las dietas purificadas, por otra parte, cuentan con ingredientes refinados, es decir que los nutrientes están bien delimitados. En las dietas purificadas se encuentra la dieta estándar AIN-93. Las diferentes fuentes nutricionales de estas dos dietas se encuentran adjuntas en el ANEXO 2. Hay que tomar en cuenta consideraciones especiales como que dietas altas en grasas pueden producir problemas como esteatosis, neoplasias, depresión, inmunodeficiencia, angiogénesis y metástasis (Farias Santos et al., 2015; Jørgensen et al., 2014; Park et al., 2012; Pellizzon & Ricci, 2020; Xu et al., 2013).

El consumo promedio de comida en los ratones es de 12 a 18g por cada 100g de peso corporal al día, mientras que el consumo de agua es de 15 ml por cada 100g de peso corporal al día, considerando una tasa metabólica de 180 a 505 kcal por kg al día. Pese a esto, estudios demuestran que el consumo varía dependiendo del sexo del animal. Según Stechman (2016), el consumo de alimento en machos es de 7.6 a 14.8 g/100g peso/día y el de las hembras es de 12.3 a 17.4 g/100g peso/día, resultando en un consumo mayor por parte de las hembras. Del mismo modo, el consumo de agua de los macho se da entre 8.4 a 15.3 ml/100 g peso/día, mientras que en las hembras va de 15.2 a 17.5 ml/100 g peso/día (Stechman et al., 2010; Suckow et al., 2001).

HEMATOLOGÍA

La hematología es el estudio de la sangre y sus componentes celulares, los cuales incluyen tanto glóbulos rojos como glóbulos blancos y plaquetas. Los parámetros estándar se miden en ratones libres de patógenos específicos. En esta sección se

comparan dos fuentes de información relacionadas a los valores hematológicos normales en ratones de la cepa BALB/c.

La primera fuente consta de la investigación publicada por (Santos et al., 2016), donde se utilizaron 42 ratones macho adultos de la cepa BALB/c. Estos se colocaron en jaulas de polipropileno de un tamaño de 30 cm por 20 cm por 30 cm, con un alimentador de acero inoxidable y agua a su disposición 2. El tiempo de adaptación fue de 14 días bajo condiciones estándar de 22 a 25 °C de temperatura con edad relativa de 55%, con un ciclo de horas luz y oscuridad 1:1. La dieta proporcionada fue preparada en a la dieta estándar AIN-93M (Reeves, 1997) La segunda fuente es un libro de manejo llamado *The Laboratory Mice* 2da Edición, escrita por (Suckow et al., 2001). Este es un manual de manejo para ratones de laboratorio realizado por expertos en el tema. Debido a que es una recopilación literaria, no se especifican las condiciones de manejo estándar relativos a los valores descritos.

A continuación, se presenta una tabla comparativa con los valores de ambas fuentes:

Tabla 7. Valores hematológicos en ratones.

Fuente		(Santos et al., 2016)	(Suckow et al., 2001)			
Hemograma						
Parámetro	Unidad	Valor de referencia	Rango (+/-)	Valor de referencia	Rango (+/-)	Promedio
Hematocrito	%	42.6	2.8	41.8	3.3	42.2
Hemoglobina	g/dl	13.4	1.4	13.6	2.7	13.5
Eritrocitos	10 ⁶ cells/mm ³	8.9	0.9	7.3	2.3	8.1
VGM	fL	47.9	3.6	52	4	49.95
CGMH	%	31.8	2.5	30.5	4.6	31.15
Reticulocitos	%	3.8	0.2	NA	NA	3.8
Leucocitos	10 ³ cells/μ	2.6	0.9	8.9	5.9	5.75
Plaquetas	10 ³ cells/μ	602	121	1538	456	1070
Diferencial: Glóbulos blancos						
Neutrófilos segmentados	10 ³ cells/μ	21.6	1.7	1.3	0.87	11.45
Neutrófilos en banda	10 ³ cells/μ	0.9	0.2	NA	NA	0.9
Linfocitos	10 ³ cells/μ	4.8	0.9	7.2	4	6
Monocitos y macrófagos	10 ³ cells/μ	0.4	0.1	1.8	1.4	1.1

Eosinófilos	10 ³ cells/ μ	0.9	0.2	0.2	0.2	0.55
Basófilos	10 ³ cells/ μ	1.3	0.3	0	0	0.65
Megacariocitos	10 ³ cells/ μ	0.3	0.1	NA	NA	0.3
Plasmocitos	10 ³ cells/ μ	0.2	0.1	NA	NA	0.2

Descripción: Tabla comparativa de los autores Santos et al. (2017) y Suckow et al. (2001) con respecto a los valores hematológicos en ratones. Promedio de valores obtenidos de ambas fuentes.

ETOLOGÍA

Los ratones son animales tímidos pero presentan una estructura social. Un factor importante para ellos es el contacto con otras especies debido a que alojamientos que sólo tienen ratones en la cercanía pueden presentar más agresividad. Los ratones de laboratorio tienen períodos de actividad tanto en el día como en la noche, contrario a los ratones salvajes, los cuales son nocturnos. Entre las actividades más comunes que realizan los ratones se encuentran comportamientos de mantenimiento, investigación o exploración e interacciones sociales. El comportamiento de mantenimiento son actividades que realiza el ratón para su cuidado personal e incluye alimentación, hidratación, aseo y anidado. El comportamiento de exploración es determinado por el tipo de alojamiento y el enriquecimiento ambiental del mismo, provocando actividades como escalar, olfatear, roer y escarbar. Las interacciones sociales pueden aumentar o disminuir dependiendo de los otros animales dentro del alojamiento, logrando actividades como el aseo comunal, marcaje territorial, comportamiento sexual, defensa o agresión (Schwiebert, 2007).

La estructura social de los ratones es variable. En la naturaleza, la colonia puede formarse por varias hembras adultas y juveniles con un solo macho, pueden verse grupos sociales con alta densidad poblacional que incluye juveniles y adultos tanto de hembras como de machos o pueden verse adultos gregarios. Los machos pueden llegar a ser territoriales mientras que las hembras pueden reproducirse con varios machos. Las hembras tienden a vivir en grupos familiares extensos y pueden formar nidos comunales y cuidar a las crías de en conjunto con otras hembras (Phifer-Rixey & Nachman, 2015).

NORMATIVA DE MANEJO

SELECCIÓN DEL ANIMAL

ADMISIÓN DE NUEVOS ANIMALES Y CUARENTENA

Al ingresar nuevos animales a las instalaciones donde se lleva a cabo la experimentación se debe tener precauciones, normalmente mediadas bajo un médico veterinario. Cuando los animales llegan, se debe realizar un conteo y sexado de los animales para verificar que las características coincidan con los criterios de compra del investigador. Se prosigue realizando un chequeo clínico general para poder descartar patologías reconocibles a simple vista como ectoparásitos, alopecia, malformaciones, ausencia de reflejos, entre otros. Es recomendable primero manejar a los machos y posteriormente a las hembras debido a que los machos tienden a mostrar más signos de agresividad por estrés en un tiempo prolongado de transporte (Arencibia, 2010). Los animales deben pesarse e identificarse. La Ordenanza Metropolitana N.019 (Secretaría General del Concejo Metropolitano De Quito, 2020) establece que los animales utilizados con fines de investigación científica deben ser registrados, identificados y codificados en el Registro Metropolitano de Fauna Urbana o REMETFU y pueden ser adquiridos únicamente mediante distribuidores certificados.

Los períodos de cuarentena evitan la propagación de enfermedades hacia los individuos sanos. Cuando se sospecha de una enfermedad infecciosa, la cuarentena en promedio debe durar de 7 a 15 días. Los roedores son especialmente susceptibles a contraer parvovirus murino y hepatitis viral murina en las instituciones experimentales. La indicación en vaso de enfermedad viral es realizar exámenes serológicos específicas a la enfermedad para comprobar que es un caso positivo. De ser así, el personal encargado de los animales debe tener precaución una vez el animal este en cuarentena, debido a que puede contaminar alojamientos con animales sanos. Debido a esto, los animales en cuarentena se manejan al final. Los animales que no pueden recuperarse deben ser eliminados e inmediatamente deben desinfectarse los espacios donde el animal se haya encontrado. La transmisión de estas enfermedades debe evitarse asignando solo a una persona (o grupo de personas) para la manipulación de los animales en el bioterio. El bioterio debe estar protegido para evitar el ingreso de animales, como roedores silvestres, dentro de las instalaciones (Arencibia, 2010; Huerkamp & Pullium, 2009).

TRANSPORTE ANIMAL

El transporte de los animales debe realizarse en horas no muy transitadas para evitar un tiempo excesivo en el medio de movilización, recomendado entre las 10 y 11 am de la mañana o 6 y 7 pm de la noche. De preferencia, el transporte se realiza en días con soleados debido a que esto ayuda a mantener la temperatura corporal del animal durante el transporte. La velocidad del vehículo, de ser utilizado, debe ser de aproximadamente 60 km/h. El alojamiento de los animales debe estar preparado previamente, de modo que la recepción sea rápida y la manipulación mínima. El transporte también puede realizarse entre las instalaciones de investigación, dentro de la misma jaula del animal. Este proceso causa estrés en el animal, activando el sistema hipotálamo-hipofisiario-adrenal lo que provoca un aumento en los niveles de glucocorticoides por al menos 24 horas y reduciendo la cantidad de linfocitos circulantes, factores que pueden ser relevantes en investigaciones afines (Arencibia, 2010; Olfe et al., 2010).

ALOJAMIENTO

MICROAMBIENTE Y MACROAMBIENTE

El microambiente es el ambiente que rodea de forma directa al ratón. En un alojamiento cerrado este consta de la jaula, el lecho de la cama, el alimento y agua proporcionados y los desechos del animal. Un microambiente ideal debe cumplir con las necesidades fisiológicas del animal, asegurando una buena nutrición, estado de salud y comportamiento normal. El macroambiente es el espacio donde se encuentra el microambiente. En el caso de este estudio, el macroambiente es el bioterio donde se encuentran los alojamientos de los ratones. El anuario meteorológico de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo establece que en el año 2021 la temperatura promedio en la ciudad de Quito, ciudad donde se establece la Universidad San Francisco, fue de 13.4°C, con un rango de 2.6 a 23.7°C. La humedad media relativa es de 73.0%, con un rango de 27.3 a 97.3%. Valores adicionales como el nivel de precipitación o el viento no se toman en cuenta considerando que el bioterio es un ambiente cerrado (F. Fuentes & Mendoza, 2008; Tiupul & Arévalo, 2021).

HÁBITAT

Los ratones deben alojarse en jaulas que faciliten su control. Es recomendado utilizar material transparente como plástico que facilite la visualización o metal. Las tapas deben ser de acero inoxidable para que el animal no pueda roerlas. El material debe resistir los lavados y esterilizaciones. La vivienda debe tener mínimo 12.7 cm de alto de modo que los animales lo escalen hacia las tapas. El espacio debe ser cerrado, con suficiente ventilación y fácil limpieza. Evitar estructuras que puedan lastimar al animal como bordes puntiagudos. El suministro de agua y alimento debe ser de fácil acceso. Las áreas de la vivienda necesarias para cumplir los requerimientos sociales del animal son: descanso, refugio, nido y desechos (F. Fuentes & Mendoza, 2008).

La superficie mínima que necesita un ratón dentro del alojamiento es de 100 cm². No obstante, es recomendado que el tamaño mínimo de la jaula sea de 330 cm², debido a que áreas menores pueden inducir problemas como depresión y ansiedad en el animal. Esto implica que una jaula de 300cm² puede alojar entre 1 a 3 animales, y hay que adicionar 100cm² por cada animal introducido. Un grupo estándar de ratones tiene entre 4 y 5 animales por alojamiento, debido a que grupos muy grandes pueden presentar mayores niveles de agresión (Canadian Council on Animal Care, 2019).

El piso debe ser rígido y contener material necesario para la anidación. Los ratones realizan nidos en forma de domos en donde pueden descansar, o en caso de las hembras, cuidar a sus crías. Usar material para la anidación previene la pérdida de calor por radiación en los ratones. Entre el material más usado están las tiras de papel, pañuelos, algodón comprimido, viruta de madera y demás. El lecho no debe generar polvillo que pueda causar alergias o intoxicaciones y la capacidad de absorción del material debe ser buena. Un problema común es el goteo de agua desde los bebederos hacia el sustrato, lo cual se evita al mantener una distancia adecuada entre ambos. La preferencia de los ratones, según Hess, et al., son las tiras de papel. Esto debido a que permite la creación de un nido más complejo que presente mas niveles de organización. Adicionalmente, este es el material menos costoso. El lecho debe contar mínimo con 6 gramos de material para anidación por animal(Gaskill et al., 2012; Gaskill, Gordon, et al., 2013; Hess et al., 2008).

MANEJO POBLACIONAL

El número de animales que habita cada jaula esta determinado por el tamaño de los animales. El animal debe poder expresar un comportamiento normal, lo que implica

facilidad de movimiento, postura y comportamiento social. El manejo poblacional también está determinado por la edad y el estado reproductivo. Las crías de los ratones deben permanecer con la madre hasta el destete y luego deben relocalizarse. En el caso de la reproducción, una pareja reproductora debe colocarse sola en una jaula para minimizar comportamientos agresivos, especialmente entre los machos. Otra alternativa es colocar a un macho con dos hembras para mejorar las posibilidades de cruce. (Canadian Council on Animal Care, 2019; Phifer-Rixey & Nachman, 2015)

Los ratones son animales sociales. El contacto social en los ratones es una recompensa que forma parte del enriquecimiento ambiental. Los machos y las hembras deben establecer niveles sociales de dominancia dentro de la manada, de modo que se cumplan las necesidades sociales, afiliativas y sexuales. Adicionalmente, permanecer en grupos es beneficioso para la recuperación post-operatoria, pues los ratones del alojamiento incentivan la actividad física y el consumo de alimento y agua. Los alojamientos individuales pueden aumentar los niveles basales de ansiedad en los animales debido a la atenuación de estímulos externos. Los animales exceptos del alojamiento social son aquellos con comportamientos recurrentes de agresión, en períodos post-quirúrgicos inmediatos (mientras tengan aun suturas) y con patologías infecciosas (Kallnik et al., 2007; National Research Council of the National Academies, 2011; Panksepp & Lahvis, 2007; Van Loo et al., 2007).

Los ratones de manera estándar se acomodan en grupos de 4 a 5 animales. Estos grupos deben formarse con ratones del mismo sexo únicamente, de modo que se eviten cruces indeseados y pueda mantenerse un registro reproductivo. En estos grupos puede haber agresión si los ratones adultos provienen de diferentes camadas. Puede identificarse al ratón que perpetua la agresión debido a que este animal no tendrá heridas físicas, normalmente es un macho dominante. Para evitar estas agresiones es recomendable que el agresor sea relocalizado y el grupo restante se divida en grupos de 2 o 3 animales. Los ratones también pueden ser localizados individualmente, sin embargo esto puede afectar su bienestar psicológico y causar problemas inmunológicos que afectan a la investigación. El aislamiento deteriora la capacidad de reconocimiento social del animal y aumenta sus niveles de estrés, especialmente en juveniles. Puede incrementarse la densidad poblacional en un 30 a 50% sin afectar el bienestar del animal, siempre y cuando aumente también el área del alojamiento (Blankenberger et al., 2018; Kerckmar et al., 2011; Nicholson et al., 2009).

AGUA Y ALIMENTO

El alimento comercial en forma de pellet es la mejor opción para el mantenimiento de animales de laboratorio debido a que las fórmulas están diseñadas en base a dietas estándar como la AIN-93. El alimento y el agua deben suministrarse libremente dentro del alojamiento, de modo que los ratones lo consuman a voluntad cuando lo necesiten. El agua debe ser potable, se coloca en bebederos para roedores y se cambia por lo menos una vez cada dos días. El alimento debe ser palatable, con una fecha de elaboración y caducidad, específico para las necesidades nutricionales de la especie y de consistencia adecuada. El alimento se coloca en contenedores por encima del lecho y la cantidad dependerá del número de ratones alojados, siguiendo las pautas mencionadas el Capítulo 1, sección de Peso y Necesidades Nutricionales. No se debe esparcir alimento sobre el lecho debido a que es más propenso a la contaminación, excepto cuando el animal este debilitado o con limitaciones de movimiento. En caso de cambiar el alimento, debe realizarse una transición progresiva para que el ratón se aclimate al cambio y se debe monitorear el consumo(Canadian Council on Animal Care, 2019).

ENRIQUECIMIENTO AMBIENTAL

El enriquecimiento ambiental se basa en la mejora de las condiciones físicas, sociales, nutricionales y sensoriales del animal. Asegurar el bienestar animal implica que haya una constante estimulación para la neurogénesis del animal. La estimulación motora y sensitiva a través de estructuras y recursos ayuda a que el animal exprese su comportamiento normal, promueve el bienestar psicológico y cognitivo, y mantiene el estado corporal del animal fomentando el ejercicio. Si los animales no se sienten cómodos en su grupo social pueden rechazar el enriquecimiento, por lo que un estricto control poblacional es fundamental. El enriquecimiento ambiental reduce los comportamientos estereotípicos, niveles de ansiedad y estrés fisiológico (Bailoo et al., 2018; National Research Council of the National Academies, 2011).

Los animales deben percibir que tienen control sobre su espacio de vivienda, por lo que brindar material de anidación y estructuras de refugio reducen los niveles de estrés. Es recomendable la colocación de accesorios recreacionales como ruedas para hámster, túneles, resbaladeras, plataformas, entre otros. Es importante considerar que si se usa accesorios recreacionales, estos deben ser reacomodados dentro del ambiente paulatinamente, de modo que los ratones no se acostumbren a un orden específico y

estos objetos sigan siendo interesantes para los animales. Estos objetos deben ser limpiados junto con la jaula, y si el material es de ciertos plásticos puede esterilizarse. Debe implementarse también material para roer, como palos de madera o huesos de nylon, debido a que los incisivos de los ratones tienen la raíz abierta, es decir que están en constante crecimiento lo que puede llevar a problemas de maloclusión (Horizny, 2019; Sztainberg & Chen, 2010).

TEMPERATURA, HUMEDAD Y VENTILACIÓN

La temperatura del alojamiento puede tener un gran impacto en los resultados de los experimentos y su posible réplica habilidad en estudios humanos. Los ratones de laboratorio que se exponen a condiciones menores a 20 °C presentan estrés por frío. La temperatura estándar del alojamiento de los ratones se encuentra en un rango de 20 a 24 °C. No obstante, al realizar estudios con gradientes de temperatura se ha observado que la zona termoneutral de los ratones, en otras palabras el rango de temperatura ambiental en la cual el ratón mantiene su temperatura corporal, se encuentra entre 26 a 34°C. Del mismo modo, estudios demuestran que los ratones prefieren las temperaturas en rangos de 26 a 29 °C. Los ratones de la cepa BALB/c podrían preferir temperaturas cercanas al rango superior debido al color de su pelaje. Los animales de mayor edad y peso corporal pueden verse menos afectados por temperaturas bajas (Gaskill et al., 2009).

El número de animales en cada alojamiento y el material utilizado en la animación pueden afectar a la temperatura preferida por el animal y su tasa metabólica. Los animales que se usan en estudios que replican la fisiología del humano deben mantenerse a temperaturas de entre 28 y 30° centígrados, ya que en este rango el ratón tiene un gasto energético que es entre 1.6 y 1.8 veces mayor a la tasa metabólica basal, lo cual simula el gasto energético de un humano promedio. Un mayor gasto energético no implica que el animal pueda tolerar temperaturas menores a las de la zona termoneutral (Fischer et al., 2018; Gaskill et al., 2009; Keijer et al., 2019).

La humedad relativa necesaria es de 45 a 65 %. La variación de la humedad relativa altera los gases y partículas, especialmente del microambiente. Debe mantenerse una especial precaución en torno a los niveles de amonio y dióxido de carbono. Para asegurar el cumplimiento de este rango es importante tener un protocolo de alojamiento de animales para evitar la sobrepoblación dentro de una jaula, y cambiar

con frecuencia el sustrato de cama. El volumen del sustrato es directamente proporcional al porcentaje de humedad en el microambiente. Pueden implementarse sistemas de ventilación como Individually Ventilated Caging (IVC), los cuales ayudan a mantener la humedad relativa dentro de cada jaula y previenen la difusión de patógenos entre colonias, pero según York (2012), además del costo elevado, pueden producir hipoxia y cambios comportamentales en los ratones. El flujo de aire del bioterio debe provenir desde el exterior, mediante un sistema de filtración y extracción de aire.(Gonder & Laber, 2007; Rosenbaum et al., 2009; York et al., 2012)

El metabolismo del agua en los ratones debe equilibrarse mediante el consumo y pérdida de agua. La pérdida de agua puede darse de forma sensible mediante la producción de orina o de forma insensible mediante el sistema respiratorio y tegumentario. Cuando los ratones necesitan mantenerse hidratados en temperaturas elevadas pierden calor por medio de la evaporación, esto provoca los aumentos de humedad en el microambiente. Dependiendo de la posición de la jaula el porcentaje de humedad puede variar, cuando las jaulas se colocan en columnas. Las jaulas situadas en la parte más baja pueden alcanzar hasta un 10% más de humedad que las jaulas en la cima. Es relevante considerar que el microambiente puede llegar a ser entre 10 a 20% más húmedo que el microambiente (Nicolaus et al., 2016; Ward et al., 2009).

ILUMINACIÓN

La exposición a la luz contribuye al bienestar animal. La iluminación debe distribuirse a través de los alojamientos de forma equitativa, por lo que hay que tener precaución con alojamientos en zonas bajas. La luz, además, debe ser suficiente para que el investigador vea de manera adecuada. Los ratones albinos de la cepa BALB/c son más sensibles a retinopatías y patologías cutáneas si la luz utilizada no es la adecuada. La intensidad de la luz debe permanecer en un rango de 130 a 323 luxes a un metro del piso. Considerando que los ratones jóvenes prefieren iluminaciones más bajas que los adultos, es recomendable que cuando haya crías estas sean trasladadas a una zona con menor intensidad de luz (Fierro, 2010; F. Fuentes & Mendoza, 2008).

La luz provista en el bioterio animal debe ser artificial. La iluminación fluorescente tiene un parpadeo imperceptible para los humanos pero afecta a los ratones, debido a que perciben que la luz se enciende y apaga constantemente. Además este tipo de luz puede emitir radiación ultravioleta, aunque en bajas cantidades, puede incomodar visualmente al animal. La investigación realizada por Sherwin, C. (2007) sugiere que

los ratones prefieren la luz incandescente. Es importante que la iluminación este acorde al ciclo circadiano del ratón, por lo que los períodos de luz y oscuridad deben ser de 12 horas respectivamente. Cambios en la ciclicidad de la luz producen daño en el sistema hipocampal, por lo que los ratones desarrollan problemas de memoria y aprendizaje. Igualmente, la alteración del sueño predispone a la obesidad y desarrollo de cáncer mamario en ratones (Fujioka et al., 2011; Sherwin, 2007).

RUIDO Y VIBRACIÓN

El ruido presente en el bioterio animal proviene principalmente de actividades humanas. Los ratones son más sensibles a los sonidos que los humanos, percibiendo intensidades entre 2,300 y 85.000 Hz a 60 decibeles. Deben identificarse fuentes de ruido innecesarias y erradicarse. Los ratones pueden percibir también ultrasonidos y lo usan como un medio de comunicación. Las fuentes adicionales de ultrasonidos, como computadoras y llaves de agua, pueden perjudicar a los ratones induciendo episodios convulsivos y pérdida de audición progresiva. Dentro del bioterio el nivel máximo de decibeles debe ser de 85 dB, y se debe evadir el uso de aparatos electrónicos dentro de la instalación. Decibeles elevados producen una disminución de la eficiencia reproductiva (Canadian Council on Animal Care, 2019; Rasmussen et al., 2009).

La vibración indeseada puede causar efectos adversos en los ratones. La vibración dentro del bioterio se da por fuentes mecánicas como los sistemas de ventilación, del mismo modo, pueden percibirse vibraciones externas como aquellas causadas por procesos de construcción. Si hay una exposición constante a estas vibraciones los ratones pueden desarrollar problemas de estrés que afecten a la reproducción, comportamiento social y sistema cardiovascular. No obstante, la vibración puede usarse como un tratamiento terapéutico. Las terapias con vibraciones de baja densidad, también conocidas como Whole-Body Vibration estimulan la formación de superficies endocorticales, volumen óseo, angiogenesis, cicatrización y demás. Estas terapias se realizan con vibraciones de baja frecuencia, entre 30 a 90 Hz y tienen un especial potencial en la cepa BALB/c, debido a que es la cepa de ratón con mejor respuesta a estos tratamientos (Lynch et al., 2010; Reynolds et al., 2018; Weinheimer-Haus et al., 2014).

BIOSEGURIDAD

SANIDAD E HIGIENE

El mantenimiento de la higiene dentro del alojamiento es importante debido a que previene la propagación de enfermedades. Hay que realizar un cambio rutinario del material de anidación, posterior a un lavado y desinfección de la jaula para la eliminación de desechos animales. No debe utilizarse desinfectantes con olores fuertes que puedan ser irritantes para el animal. La frecuencia con la que se limpia puede variar dependiendo de factores como la humedad, el tipo de material, percepción de amoníaco en el ambiente y el estado del animal. Sin embargo, es recomendable que el tiempo entre cada limpieza no supere las 2 semanas. Durante los primeros días post-parto de una hembra, no se debe realizar la limpieza del alojamiento debido a que puede afectar a las crías. De ser estrictamente necesario, puede cambiarse únicamente el material alrededor del nido. Los ratones se acicalan, por lo que los baños solo se realizan en casos puntuales debido a que el jabón puede alterar el pH de la piel. El laboratorio o bioterio donde estén localizados los alojamientos también debe ser desinfectado regularmente (Montes García, 2018; National Research Council of the National Academies, 2011).

CONTROL DE PATOLOGÍAS

Los ratones deben tener un monitoreo de salud periódico para así evitar la propagación de enfermedades infecciosas. Las poblaciones de laboratorio son más propensas a la presentación de enfermedades si las condiciones de alojamiento son inadecuadas. Los agentes que provocan enfermedades infecciosas con mayor prevalencia en los ratones son virales como norovirus, parvovirus, hepatitis viral murina, rotavirus, encefalomielitis viral murina (Theiler); bacterianas como *Helicobacter spp.* *Pasteurella pneumotropica*; y parasitarias como nemátodos oxiuridos. En el caso de un brote infeccioso, se deben aplicar protocolos de cuarentena y tratamientos específicos para cada caso. En caso de que un animal fallezca o deba ser eutanasiado, es óptimo realizar una contención adecuada del cadáver y una posterior descontaminación del alojamiento previo. Actualmente no existen protocolos de vacunación en ratones (Canadian Council on Animal Care, 2019; Pritchett-Corning et al., 2009).

La medicina preventiva es fundamental para evitar brotes patológicos. La examinación física en los ratones de manera general se realiza en el siguiente orden, según (Suckow et al., 2001):

1. Monitoreo a distancia del comportamiento del animal en su alojamiento.
2. Toma de frecuencias fisiológicas como temperatura, frecuencia cardíaca y frecuencia respiratoria.
3. Examinación general de pelaje, piel, y posibles heridas.
4. Condición corporal.
5. Examinación de secreciones o anomalías en ojos, nariz, orejas. Observación de boca y dentadura.
6. Palpación de miembros anteriores, miembros posteriores y cola.
7. Palpación torácica y abdominal.
8. Examinación de secreciones o anomalías en zona perineal.

PROCEDIMIENTOS EN FASE DE EXPERIMENTACIÓN

BIENESTAR ANIMAL

Los ratones que cumplen la función de organismo modelo experimental deben ser tratados bajo normas éticas de bienestar animal. La Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario del Ecuador estableció bajo la resolución XX que en el país se deben “establecer criterios uniformes que permitan regular eficientemente la operación de las actividades relacionadas con la producción, cuidado, manejo y uso de animales en investigación científica, a fin de favorecer el bienestar de éstos, protegiendo al mismo tiempo su salud” (AGROCALIDAD, 2018). Bajo esta premisa, el concepto de las 3R (reemplazar, refinar y reducir) se utiliza para mejorar las prácticas científicas y minimizar el potencial sufrimiento animal (Spangenberg & Keeling, 2016).

El bienestar animal puede evidenciarse cuando el animal expresa su comportamiento normal. Los comportamientos más comunes son la anidación y el acicalamiento propio y social. Asegurar el bienestar animal implica un manejo apropiado del ambiente. Factores como el enriquecimiento ambiental, la provisión de agua y alimento, material de anidación, manejo poblacional y condiciones ambientales son esenciales. El comportamiento del animal asociado a tales factores puede evaluarse mediante indicadores psicológicos y comportamentales, como un etograma. El etograma indica la frecuencia de los comportamientos específicos de un organismo dentro de su

medio (Bailoo et al., 2018; Gaskill, Karas, et al., 2013; Leach et al., 2008; Leach & Main, 2008; Meagher, 2009). En base a los estudios de (Makowska et al., 2019) y (Hobbiesiefken et al., 2021), en el ANEXO 3 se adjunta un etograma específico para ratones en condiciones de laboratorio.

RECONOCIMIENTO DEL DOLOR Y ANGUSTIA

El dolor y la angustia pueden evaluarse mediante el estado físico, el estado psicológico y el estado fisiológico del animal. El estado físico permite la observación a simple vista de condiciones como la postura del cuerpo, el pelaje, condición corporal, marcha y bruxismo. Las expresiones faciales de los ratones también son un indicador de dolor, según la Escala de Grimace, adjunta en el ANEXO 4 ((Langford et al., 2010). El estado psicológico puede ser monitoreado mediante el cambio de los comportamientos normales del animal, pudiendo aumentar los niveles de agresión, comportamientos de huida o retirada, estereotipias, cambios en el uso del enriquecimiento y “barbering”, cuando los animales extirpan pelo o bigotes a sí mismos u otros. El estado fisiológico puede medir a nivel cuantitativo los niveles de estrés o angustia. Algunos parámetros que pueden sugerir estrés en el animal son aumento de la frecuencia cardíaca y respiratoria, niveles elevados de hormonas como corticoesteroides. Es importante realizar una observación constante de los ratones antes y después de procedimientos dolorosos para poder detectar si el tratamiento y/o cuidados deben ser revisados (Maschi, 2017; Spangenberg & Keeling, 2016; Turner et al., 2019).

Durante la fase experimental pueden generarse molestias para el animal, pero que son necesarias para la obtención de resultados. No todas las molestias son permitidas debido a que la Ley Orgánica de Bienestar Animal en Ecuador establece que: “la función de un profesional en proyectos de investigación científica con animales es asegurarse que el diseño y la implementación de los protocolos estén acordes con criterios éticos y científicos.” Las molestias menores son la toma de muestras sanguíneas o de flujo vaginal, administración de medicamentos, experimentos terminales bajo anestesia, vacunación y toma de radiografías en animales no anestesiados. Las molestias moderadas son toma frecuente de muestras sanguíneas, inmovilización o uso de yesos, cesáreas, trasplantes de piel y recuperación de procedimientos con anestesia general. Las molestias severas son privación prolongada de comida y agua, inducción de infecciones experimentales o defectos genéticos, y hemorragia sin sedación (AGROCALIDAD, 2018; Fierro, 2010).

MANIPULACIÓN DEL ANIMAL

La manipulación de un animal durante la fase experimental es un proceso inevitable, que puede inducir estrés en el animal. El tipo de manipulación influye en el nivel de confianza del animal hacia el investigador, de modo que si la manipulación es incómoda para el animal el procedimiento se dificulta. Cuando los animales son habituados a la manipulación desde una edad joven, hay efectos comportamentales positivos como aumento de la memoria espacial y reducción en el nivel de estrés, estudiado mediante la reducción de llamados de estrés durante las inyecciones y el aumento en vocalizaciones ultrasónicas positivas. Una manipulación gentil previene estadios de depresión en ratones. Los métodos de manipulación se utilizan principalmente para la administración de fármacos. Las vías designadas para esto son la vía oral, intraperitoneal, subcutánea en la piel del cuello, e intravenosa en la cola (F. Fuentes & Mendoza, 2008; Neely et al., 2018).

Actualmente se han descrito tres métodos de manipulación en los ratones de laboratorio. El método más utilizado consiste en la sujeción del animal desde la base proximal de la cola, colocándola entre los dedos anular y meñique de modo que el índice y el pulgar realicen una sujeción de la piel del cuello, evitando que el ratón pueda rotar la cabeza y morder al investigador. Esta manipulación se utiliza para inspección abdominal y para inoculación (agujas calibre 21 a 25), pudiendo apoyar al animal sobre la base de la mano. No obstante, esta técnica puede causar aversión hacia el investigador, aumentar los niveles de ansiedad, inducir micción y defecación como mecanismos de defensa y disminuir el hedonismo provocando estados depresivos en el animal. Las alternativas para este método son la manipulación con el uso de túneles, o la manipulación a mano abierta por aproximación voluntaria, los cuales tienen excelentes resultados especialmente en las cepas BALB/c. Estas aproximaciones reducen los niveles de ansiedad en el animal, producen más aceptación hacia la manipulación y mejoran la confianza del animal hacia el investigador. La familiarización con estos métodos se realiza repitiendo la técnica por cinco días continuos (Clarkson et al., 2018; Gouveia & Hurst, 2019; Hurst & West, 2010; Vargas et al., 2018).

ANESTESIA Y ANALGESIA

La anestesia y analgesia son importantes para llevar a cabo procedimientos en la fase experimental. La analgesia reduce el dolor intra o post operatorio, mientras que los protocolos de anestesia brindan relajación, hipnosis y amnesia. Estos protocolos deben

ser optimizados de modo que el animal pueda sobrevivir al procedimiento. Para esto, es importante un monitoreo constante de signos vitales como frecuencia respiratoria, frecuencia cardiaca, niveles de oxigenación en sangre y distensión vascular, en base a los parámetros mencionados en el Capítulo 1. Durante una anestesia muy profunda los ratones bajan su frecuencia respiratoria a >50 respiraciones por minuto, mientras que una anestesia muy ligera aumenta la frecuencia a >70 respiraciones por minuto. Adicionalmente, reflejos como el corneal y deglutorio funcionan como indicadores anestésicos. Durante estos protocolos, el animal debe compensar la pérdida de fluidos con una infusión constante de fluidoterapia, y la pérdida de calor con compresas o placas calefactoras. Los protocolos anestésicos recomendados para ratones de laboratorio se encuentran adjuntos en el apartado ANEXO 5, no obstante, estos deben ser ajustados en base a la respuesta individual del ratón. Anestésicos inhalatorios como el sevoflurano pueden causar neurotoxicidad fetal por lo que su uso no es recomendado en hembras gestantes (Ewald et al., 2011; Gargiulo et al., 2012; Jonckers et al., 2014; Zheng et al., 2013).

CRITERIOS DE PUNTO FINAL

EUTANASIA

Los métodos de eutanasia deben asegurar una reducción en el estrés del animal de modo que su muerte sea tranquila. Actividades como el transporte y manipulación del animal previa a la eutanasia deben ser reducidas, debido a que son condiciones estresantes para los ratones. El animal debe estar aislado de estímulos olfatorios o auditivos que puedan producir respuestas negativas, como vocalizaciones y feromonas. Los métodos más aceptados en los ratones son el uso de barbitúricos, como el pentobarbital, en dosis tres veces mayores a la dosis anestésica; y el uso de combinaciones de agentes disociativos como la ketamina, en combinación con α 2-adrenergicos como la xylacina o benzodiacepinas como el diazepam (Hawkins et al., 2016; Leary & American Veterinary Medical Association, 2020).

Otros métodos de eutanasia pueden atentar contra el bienestar del animal si el manejo es inadecuado. La inhalación de dióxido de carbono, monóxido de carbono, óxido nitroso o anestésicos halogenados es aceptable mientras se encapsule al animal y se mantenga un flujo adecuado con respecto al volumen de la capsula. Métodos físicos como la dislocación cervical y la decapitación deben realizarse por medio de personal

capacitado de modo que la eutanasia sea eficaz, siempre con una anestesia previa y únicamente en casos donde otros métodos sean imposibles de realizar o en neonatos. Al finalizar la eutanasia, los animales deben ser desechados según las regulaciones locales con respecto a material biológico (Boivin et al., 2017; Carbone et al., 2012; Valentine et al., 2012).

RELOCALIZACIÓN

La institución puede relocalizar a los animales ya sea como mascotas, como forraje vivo para zoológicos o como modelos de experimentación para otras instituciones dependiendo de la condición de cada animal. Los animales cuyo destino sea como forraje vivo en zoológicos deben presentar un buen estado de salud. Es recomendable realizar al menos un examen clínico previo al traslado, para descartar posibles enfermedades de transmisión zoonótica. No se permite la relocalización de animales genéticamente modificados, a excepción de relocalización en otras instituciones que realicen estudios similares. En el caso de adopción como mascotas, la institución tiene la obligación de asesorar al futuro dueño con respecto a los cuidados y necesidades del animal para asegurar su bienestar. Sin importar el destino de relocalización, la institución es responsable de mantener un seguimiento de los animales posterior al estudio (Canadian Council on Animal Care, 2019; National Research Council of the National Academies, 2011).

ANEXOS

ANEXO 1

Tabla 8. Aporte nutricional de los ingredientes, minerales y vitaminas estándar en una dieta AIN93.

Ingrediente	AIN-93G	AIN-93M	Mineral	AIN-93G	AIN-93M	Vitamina	AIN-93G y AIN-93M
	g/kg			g/kg			g/kg
Maicena	397.486	465.692	Carbonato de calcio anhidro (40,04% Ca)	357.00	357.00	Ácido nicotínico	3.000
Caseína (>85 % de proteína)	200.000	140.000	Fosfato de potasio monobásico (22,76% P 28,73% K)	196.00	250.00	pantotenato de calcio	1.600
Almidón de maíz dextrinizado (90–94 % de tetrasacáridos)	132.000	155.000	Citrato de potasio tripotásico monohidrato (36,16% K)	70.78	28.00	Piridoxina-HCl	0.700
sacarosa	100.000	100.000	Cloruro de sodio (39,34 % Na 60,66 % IC)	74.00	74.00	Tiamina-HCl	0.600
Aceite de soja (sin aditivos)	70.000	40.000	Sulfato de potasio (44,87% K 18,39% S)	46.60	46.60	Riboflavina	0.600
Fibra 3	50.000	50.000	Óxido de magnesio (60,32% Mg)	24.00	24.00	Ácido fólico	0.200
Mezcla de minerales (AIN-93G-MX)	35.000	35.000	Citrato férrico (16,5% Fe)	6.06	6.06	biotina	0.020
Mezcla de vitaminas (AIN-93-VX)	10.000	10.000	Carbonato de zinc (52,14% Zn)	1,65	1,65	Vitamina B-12 (cianocobalamina) (0,1% en manitol)	2.500
L-cistina	3.000	1.800	Metasilicato de sodio·9H ₂ O (9,88 % Si)	1.45	1.45	Vitamina E (all -rac -α-tocoferil acetato) (500 UI/g)	15.000

Bitartrato de colina (41,1% colina)	2.500	2.500	Carbonato manganoso (47,79% Mn)	0,63	0,63	Vitamina A (palmitato de retinilo todo <i>trans</i>) (500 000 UI/g)	0.800
<i>terc</i> - butilhidroquinona (TBHQ) mg	14.0	8.0	Carbonato cúprico (57,47% Cu)	0.30	0.30	Vitamina D-3 (colecalfiferol) (400.000 UI/g)	0.250
			Sulfato de potasio y cromo·12H₂O (10,42 % Cr)	0.275	0.275	Vitamina K-1 (filoquinona)	0.075
			Ácido bórico (17,5% B) mg	81.5	81.5	Sacarosa en polvo	974.655
			Fluoruro de sodio (45,24% F) mg	63.5	63.5		
			Carbonato de níquel (45% Ni) mg	31.8	31.8		
			Cloruro de litio (16,38% Li) mg	17.4	17.4		
			Selenato de sodio anhidro (41,79% Se) mg	10.25	10.25		
			Yodato de potasio (59,3% I) mg	10.0	10.0		
			Paramolibdato de amonio·4H₂O (54,34 % Mo) mg	7.95	7.95		
			Vanadato de amonio (43,55% V) mg	6.6	6.6		
			sacarosa en polvo	221.026	209.806		

Fuente: (Reeves, 1997)

ANEXO 2

Tabla 9. Nutrientes estándar en dietas de ingredientes purificados y dietas a base de cereales.

Fuentes típicas		
Tipo de dieta	Dieta de ingredientes purificados	Dieta a base de cereales
Nutrientes		
Proteína	Caseína	Harina de soja, maíz molido, trigo y avena, suero de leche, alfalfa, harina de pescado, harina de carne
Grasas	Aceite de soja, aceite de maíz	Grasa animal porcina, harina de pescado, harina de carne
Carbohidrato	Almidón de maíz, maltodextrina, sacarosa	Maíz, trigo y avena molidos, harina de trigo
Fibra	Celulosa refinada	Maíz molido, trigo y avena, pulpa de remolacha seca, alfalfa, harina de trigo
Micronutrientes	Principalmente premezclas de vitaminas y minerales	La mayoría de los ingredientes, micronutrientes adicionales añadidos
Posibles no nutrientes/contaminantes		
fitoestrógenos	Ausente	Harina de soja (genisteína, daidzeína), harina de alfalfa (cumestrol)
Metales pesados	Rastro/no detectable	Granos y subproductos animales (arsénico, plomo, cadmio, cobalto)
Contaminantes, pesticidas, micotoxinas, nitrosaminas, endotoxinas	Rastro/no detectable	Granos (contaminantes, micotoxinas) y subproductos animales (contaminantes, nitrosaminas)

Fuente: (Pellizzon & Ricci, 2020)

ANEXO 3

Tabla 10. Etograma para ratones de laboratorio.

Tipo de Conducta	Comportamiento	Descripción	Número de Repeticiones	Tiempo
Anormal: Comportamiento perturbador, destructivo o perjudicial para el bienestar fisiológico, psicológico y social de un ratón y sus compañeros de jaula. Se consideran estereotipias.	Bar-mouthing	Mordedura falsa en un área fija de las barras de alimentación		
	Salto	Movimientos de salto repetitivos orientados hacia el techo.		
	Trazo de ruta	Trazado repetitivo de una trayectoria inespecífica.		
	Wiping	Balanceo lateral del ratón contra un costado de la jaula. Miembros posteriores estáticos, miembros anteriores y cabeza oscilan.		
	Caminata en círculo	Trazado repetitivo de una trayectoria vagamente circular		
	Excavación al vacío	Excavación estacionaria del piso de la jaula después de quitar la ropa de cama		
Afiliativo: Comportamiento que funciona para desarrollar o fortalecer los lazos sociales.	Acicalamiento	Ser lamido o lamer el pelaje de otro ratón		
	No visible solo	Solo el ratón focal no es visible en el nido.		
	No visible con pareja(s)	El ratón focal y al menos otro ratón no son visibles en el nido		
	Descansa solo	Acostado solo; no en el nido		
	Descanso con pareja(s)	Acostado con otro ratón (menos de aproximadamente 0,5 cm de distancia)		
Agonista: Interacción social que permite que el ratón obtenga el control de recursos reales o futuros a expensas de otro ratón	Ataque	Acto agresivo donde el ratón focal es el actor o receptor de un ataque o una mordedura		
	Persecución	Seguir o ser seguido inmediatamente antes o después de un ataque		
	Guerra de túneles	Dos o más ratones tratando de ir en direcciones opuestas en el túnel		
Mantenimiento: Comportamiento que mantiene la estasis fisiológica, la comodidad y la apariencia del ratón.	Bebida	Lamiendo la boquilla del bebedero		
	Alimentación	Roer gránulos de comida del comedero		
	Auto-preparación	Acariciar, lamer o rascar cualquier parte del propio		

		cuerpo		
Anidación: Manipulación de ropa de cama, material de anidación o nido para formar un nido	Objetos	Llevar piezas de ropa de cama o material para anidar en la boca		
	Excavación	Una serie de rápidos movimientos alternos de las patas delanteras, raspando el material hacia atrás.		
	Esponjoso	Las paredes del nido parecen saltar a medida que se agranda todo el nido.		
	Tirando	Alcanzar fuera del nido y tirar del material de anidación hacia el nido		
	Empuje y excavación	Empujar y patear hacia adelante el material de la cama con movimientos alternantes rápidos de las patas delanteras		
	Movimiento de pala	Sumergir la nariz en el material de cama y excavar debajo		
	Clasificación	Colocar material de cama o anidamiento específico en un lugar particular, mientras está sentado en el nido		
	Raadura	Movimientos laterales de las patas delanteras para sacar sustrato a través de la boca.		
Sensitivo: Comportamiento que estimulan los tractos sensitivos del animal.	Olfatear (sin dirección)	Manteniendo la nariz en el aire y lejos de cualquier estímulo identificable		
	Olfatear (social)	El ratón focal es el actor o receptor de una investigación olfativa de un conoespecífico		
Movimiento: Comportamientos cinéticos de locomoción, postura o marcha del animal.	Monta	Montar o ser montado por detrás		
	Mover ropa de cama	Mover material de cama de una jaula a otra		
	Trasero	Levantada sobre sus patas traseras y extendiendo la cabeza hacia arriba.		
	Escalada	Suspendido del alimentador		
	Retozón	Salto repentinos, saltos, movimientos bruscos y saltones		
	Locomoción	Locomoción general dentro del alojamiento		

Fuente: (Makowska et al., 2019) y (Hobbiesiefken et al., 2021)

ANEXO 4

Gráfico 6. Escala de Grimace en ratones.

NC 3R^S National Centre for the Replacement, Refinement & Reduction of Animals in Research

The Mouse Grimace Scale

Research has demonstrated that changes in facial expression provide a means of assessing pain in mice.

The specific facial action units shown below have been used to generate the Mouse Grimace Scale. These action units increase in intensity in response to post-procedural pain and can be used as part of a clinical assessment.

The action units should only be used in awake animals. Each animal should be observed for a short period of time to avoid scoring brief changes in facial expression that are unrelated to the animal's welfare.

	Not present "0"	Moderately present "1"	Obviously present "2"
Orbital tightening <ul style="list-style-type: none"> Closing of the eyelid (narrowing of orbital area) A wrinkle may be visible around the eye 			
Nose bulge <ul style="list-style-type: none"> Bulging on the bridge of the nose Vertical wrinkles on the side of the nose 			
Cheek bulge <ul style="list-style-type: none"> Bulging of the cheeks 			
Ear position <ul style="list-style-type: none"> Ears rotate outwards and/or backwards, away from the face Ears may fold to form a 'pointed' shape Space between the ears increases 			
Whisker change <ul style="list-style-type: none"> Whiskers are either pulled back against the cheek, or pulled forward to 'stand on end' Whiskers may clump together Whiskers lose their natural 'downward' curve 			

Read the original paper: Langford DJ, Bellamy JL, Chanda M, Clarke SC, Drummond TE, Edwards G, Gilks S, Ingram J, Johnston-Bass T, LaChapelle JH, Mironovs L, Sorge RE, Strickland BG, Tjebke JM, Wang D, van den Munstering AAJM, Fernald MG, Craig DJ, Mogil JS. 2010. Coding of facial expressions of pain in the laboratory mouse. *Nature Methods* 7(8): 447-454. doi:10.1038/nmeth.1436

For guidelines on using the Mouse Grimace Scale, research papers that describe the technique, and for grimace scales in other species, visit www.nc3rs.org.uk/guide-to-grimace-scales. To request copies of this poster, please email enquiries@nc3rs.org.uk. The NC3RS provides a range of 3Rs resources at www.nc3rs.org.uk/resources. Images kindly provided by Dr Jeffrey Mogil, MCGill University.

Fuente: (Langford et al., 2010)

ANEXO 5

Tabla 11. Protocolo para el uso de anestesia inyectable, analgesia, antibióticos quirúrgicos y anestesia inhalatoria.

Tipo	Familia	Medicamento	Dosis mg/kg	Vía	Comentarios
Anestesia inyectable	Barbitúricos	Pentobarbital	50 a 90	IP	Depresión cardiorrespiratoria, hipotensión, larga duración
		Tiopental	30 a 40	IP	Depresión cardiorrespiratoria, hipotensión, corta duración
	TBE	Tribromoethanol	240	IP	Relajación muscular y anestesia de corta duración. Puede causar peritonitis.
	Anestésicos disociativos	Ketamina	80 a 100	IP	Sedación
		Tiletamina + zolazepam	40/80	IP	Sedación
		Ketamina + xylacina	100/10	IP	Para aumentar la duración administrar media dosis de ketamina. Revertir con atipamezol.
		Ketamina + medetomidina	75/1 Hembras 50/1 Machos	IP	Depresión respiratoria moderada. Revertir con atipamezol.
		Ketamina + dexmedetomidina	50 a 75/0.5 a 1	IP	Depresión respiratoria moderada. Revertir con atipamezol.
		Fenotiazínicos	Ketamina + acepromacina	100/5	IP
	Ketamina + xylacina + acepromacina		100/10/3	IP	Anestesia quirúrgica
	Benzodiacepinas	Ketamina + diacepam	100/5	IP	Inmovilización
		Ketamina + midazolam	100/5 , 100/3 o 50/3	IP	Inmovilización
	Opioides	Morfina	10	SC	Cada 2 a 4 horas
		Meperidina	20	SC	Cada 2 a 3 horas
		Fentanilo	0,6	SC	Duración de 30 minutos
		Buprenorfina	2	SC	Cada 12 horas
		Naloxona	0,01 a	IV o	

			0,05	IM	
	Neuroleptoanalgesia	Fentanilo + fluanisona	0,1/3,3	IP	Inmovilización
		Fentanilo + fluanisona + midazolam	0,1/3.3/5	IP	Inmovilización
		Fentanilo + midazolam + medetomidina	0.05/5/0.5	IP	Anestesia quirúrgica
Analgesia	AINES	Meloxicam	1	SC o PO	30 minutos prequirúrgico y cada 24h post quirúrgico
		Carprofeno	5	SC o PO	Cada 24h
		Ketoprofeno	2 a 5	SC	Cada 12 o 24h
	Opioides	Buprenorfina	0.05 a 0.1	SC	Cada 12h
		Tramadol	10 a 20	IP	Diluir en solución salina
	Anestésicos locales	Lidocaína	1 a 4	SC	Diluir en solución salina
Antibióticos quirúrgicos	Fluoroquinolonas	Enrofloxacina	5 a 20	SC	Cada 24h
	Sulfonamidas	Trimetropina + sulbactam	15 a 30	PO, SC o IM	Cada 12h
Anestesia inhalatoria	Medicamento	Concentración para inducción		Concentración para mantenimiento	
	Halotano	4 a 5% + 0.8 a 1 L/min		1 a 4 % + 0.8 a 1 L/min	
	Isoflurano	4 a 5% + 0.8 a 1 L/min		1 a 3% + 0.8 a 1 L/min	
	Sevoflurano	Concentración dependiente del individuo + 0.8 a 1 L/min		Concentración dependiente del individuo + 0.8 a 1 L/min	

Fuente: (Gargiulo et al., 2012)