



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE MEDICINA

Procedimientos Operacionales Rutinarios Bioterio

2. Lineamientos Generales.

d. Lineamientos para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio en la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

LINEAMIENTOS PARA EL CUIDADO Y USO DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO COMITÉ PARA EL CUIDADO Y USO DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO FACULTAD DE MEDICINA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

El presente documento está dirigido al personal académico de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, con la finalidad de informar sobre los aspectos relacionados con el uso de animales para la investigación y la práctica docente. La lectura del contenido, es indispensable para la elaboración del “Cuestionario para la Valoración del Uso de los Animales”, herramienta sustancial para autorizar protocolos de investigación y practicas docentes en animales por parte del Comité para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio.

1. Alternativas.

El investigador o el profesor que diseñe una práctica deberá comunicar por escrito al Comité que se ha realizado una búsqueda de posibles alternativas para reemplazar el uso de los animales, reducir el número de los mismos o refinar el diseño de estudio para causar menor dolor y sufrimiento a los animales; y que los métodos propuestos son los menos invasivos o estresantes, compatibles con los objetivos.

Existen sitios donde se pueden realizar búsqueda de información sobre alternativas, las cuales se presentan a continuación:

- Altweb: Alternatives to Animal Testing on the Web.
- http://altweb.jhsph.edu/publications/alt_resouces/intro.htm
<http://altweb.jhsph.edu/database/database.htm>
- National Agricultural Library’s Animal Welfare Information Center (AWIC)-(US)
Department of Agriculture
www.nal.usda.gov/awic/
- European Center for the Validation of Alternative Methods (ECVAM) Scientific Information Service
<http://ecvam-sis.jrc.it/index.html>
- Fund for the Replacement of Animals in Medical Experiments
www.frame.org.uk/links/databases.htm
- The (US) Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods (ICCVAM) and National Toxicology Program (NTP) “Interagency Center for the Evaluation of Alternative Toxicological Methods” (NICEATM)
<http://iccvam.niehs.nih.gov/>
- The Jhons Hopkins Center for Alternatives to Animal Testing (CAAT)
<http://caat.jhsph.edu/>



(US) National Library of Medicine's Alternatives to the Use of Live Vertebrates in Biomedical Research and Testing (formerly Alternatives to Animal Testing)
<http://sis.nlm.nih.gov/Tox/ToxAnimal.htm/>

- The Norwegian Reference Center for Laboratory Animal Science and Alternatives (The NORINA database)
<http://oslovet.veths.no/database.html>
<http://oslovet.veths.no/textbase>
- The University of California Center Animal Alternatives
www.vetmed.ucdavis.edu/Animals_Alternatives/main.htm
- Base de Datos Alternativas en la Educación (Información en refinamiento, reducción y reemplazo)
<http://AVAR.org>
- Netherland Centre for Alternatives to Animal Use. <http://www.nca-nl.org>

2. Clasificación de las Propuestas.

Las propuestas de actividades que involucren animales, tales como protocolos de investigación, programas de prácticas y pruebas de control, serán clasificadas por el mismo investigador o profesor de acuerdo al dolor o malestar que se cause a los animales. El pleno del Comité revisará la propuesta con clasificación D y E.

Las categorías de experimentos según el daño que causan a los animales son:

Categoría A: Procedimientos que no causan molestia o estrés en los animales. Por ejemplo:

- Estudios de observación conductual en animales en libertad,
- Categoría B: Procedimientos que causen dolor o estrés ligero, o dolor de corta duración (eutanasia). Por ejemplo:
Experimentos que involucran invertebrados.
 - Estudios en vertebrados que incluyen la inmovilización con pericia y durante lapsos breves con propósitos de observación o examen físico de los animales.
 - Administración de sustancias no tóxicas por vía oral, transdérmica, intravenosa, subcutánea, intramuscular, introcular, intranasal o intraperitoneal.
 - Estudios agudos sin supervivencia en los que los animales están bajo anestesia profunda y no recuperan la conciencia.
 - Los métodos de eutanasia recomendados que estén precedidos de inducción rápida de inconsciencia, tales como sobredosis anestésica, decapitación precedida de sedación o anestesia superficial.
 - Lapsos breves de privación de agua y/o alimento equivalentes a los períodos de abstinencia presentados en condiciones naturales.



Categoría C: Procedimientos que causen dolor o estrés moderado de mayor duración.

- Por ejemplo:
 - Estudios en vertebrados que demandan la canulación o cateterización de vasos sanguíneos o cavidades corporales, bajo anestesia.
 - Procedimientos quirúrgicos menores, bajo anestesia, como biopsias y laparoscopia.
 - Inyecciones por vía intracardiaca o intratorácica.
 - Lapsos cortos de inmovilización que van más allá de la simple observación o examen, pero que causan sufrimiento mínimo.
 - Lapsos cortos de privación de agua y/o alimento que excede los lapsos de abstinencia presentados en condiciones naturales.
 - Experimentos conductuales en animales conscientes, que involucran inmovilización estresante ligera.

Durante o después de la realización de los procedimientos clasificados en esta categoría los animales no deben mostrar:

- Anorexia.
- Deshidratación.
- Hiperactividad.
- Postración o somnolencia.
- Aumento de vocalizaciones.
- Exacerbación de la conducta defensiva-agresiva.
- Mostrar segregación social, aislamiento.
- Automutilación.

Categoría D: Procedimientos que causen dolor o estrés significativo y constante en especies animales vertebrados. Por ejemplo:

- Procedimientos quirúrgicos mayores conducidos bajo anestesia general y subsecuente recuperación.
- Inducción de anomalías anatómicas y fisiológicas que resultarán en dolor y sufrimiento.
- Aplicación de estímulos nocivos de los cuales sea imposible escapar.
- Lapsos prolongados de inmovilización física (varias horas).
- Inducción de estrés conductual, como privación materna, agresión, interacciones depredador-presa.
- Procedimientos que causen desorganización sensomotriz severa, persistente o irreversible.
- Uso de adyuvante completo de Freud.
- Producción de enfermedades por irradiación.

Los procedimientos clasificados en esta categoría no deben causar sufrimiento clínico, como por ejemplo:



- Ausencia de acicalamiento.
- Deshidratación.
- Vocalizaciones anormales.
- Anorexia prolongada.
- Colapso circulatorio.
- Letargia extrema.
- Renuencia a moverse.
- Signos clínicos de infección sistémica o local avanzada o severa.

Categoría E: Procedimientos que causen dolor severo por encima del umbral de tolerancia al dolor en animales conscientes, no anestesiados. Por ejemplo:

- El uso de fármacos paralizantes musculares, tales como la succinil colina y otros compuestos curariformes, utilizados solos sin la combinación con anestésicos.
- Quemaduras severas o infligir traumas en animales no anestesiados.
- Pruebas de toxicidad y enfermedades infecciosas inducidas experimentalmente u otras condiciones cuya culminación sea la muerte.
- Intentos para inducir conductas similares a la psicosis.
- Métodos de sacrificio no recomendados tales como la administración de estricnina.
- Estrés severo del que no pueda escapar o estrés terminal.

Los procedimientos de esta categoría son considerados cuestionables y sólo serán utilizados dependiendo de la relevancia de los resultados esperados.

3. Anestesia y Analgesia.

Los procedimientos que causen dolor o sufrimiento a los animales, que vaya de lo ligero o momentáneo deberán llevarse a cabo siempre y cuando los animales le sean administradas drogas sedantes, analgésicas o anestésicas, de acuerdo con las recomendaciones establecidas más adelante, a menos de que su uso este contraindicado por razones científicas, argumentadas por escrito, en cuyo caso sólo se llevará a cabo durante el lapso indispensable y previa autorización del Comité.

En el siguiente cuadro se hacen algunas recomendaciones para la sedación, analgesia y anestesia de las principales especies utilizadas. La referencia primaria se tomó del formulario elaborado por Hawk, C. T. y Leary, L. S., auspiciada por el American College of Laboratory Animal Medicine.



Procedimiento	Fármaco	Dosis por Especie (mg/kg)			Vía
		Ratón	Rata	Conejo	
Sedación	Acepromazina	1 - 2	1 - 2	1 - 5	IM
		2 - 5			IP
	Diazepan		2	2	IV
		5	2.5-4	5-10	IM-IP
	Xilazina	4 - 8	1 - 8	1 - 5	IM
		10			IP
Ketamina			30	IM	
Anestesia	Sevofluorano	5 - 7% Inducción	5 - 7% Inducción	5-7% Inducción	Inhalada
		0.5 - 3 % Mant.	0.5 - 3 % Mant.	0.5 - 3 % Mant.	Inhalada
	Pentobarbital Sódico			15-30	IV
	Ketamina + Xilazina	200 + 10			IM-IP
90-120 + 10		40-80 + 5-10 90-10	50+10 10+3	IP+IP IM+IM IV + iV	
Ketamina + Acepromazina	100 + 2.5	75 + 2.5	50-75+1-5	IM+IM	
		30+3		IM+IM	
Analgesia	Ácido Acetil Salicílico	400 (día)	400 (día)	400 (día)	SC
		120 (c/4 hrs) 25	100 (c/4hrs)	100 (c/4hrs)	PO IP
	Flumixin Meglumina	2.5 (c/12 hrs)	1.1 (c/12 hrs)	1.1 (c/12 hrs)	SC-IM
	Butorfanol	0.05-5 (c/4 hrs)	0.05 - 2 (c/4hrs)		SC
				1	IM
	Diclofenaco	8	10		PO
Ketoprofeno			1 - 3	IM	

Con la finalidad de establecer las bases para el uso de fármacos sedantes, anestésicos y analgésicos y su probable interferencia en los resultados de los procedimientos experimentales o en la consecución de las practicas docentes, se presenta a continuación los efectos adversos de los medicamentos recomendados anteriormente.

A. Acepromazina.



No se utilice en animales tratados con sustancias organofosforadas o clorhidrato de procaína, los cuales potencian su toxicidad.

- La administración subcutánea provoca tumefacción en el punto de inoculación, los cuales desaparecen con el tiempo sin dejar alteraciones.
- Caída del parpado superior.
- Prolapso del tercer parpado (membrana nictitante).
- Posición baja de la cabeza y apoya ésta contra objetos fijos.
- Se aconseja prudencia en caso de cardiopatías, lesiones hepáticas o pulmonares.
- No aplicar en animales con epilepsia, choque, hemopatías o alteraciones de la coagulación.
- Otros efectos reportados de las fenotiazinas varían con la droga, la dosis y el método de administración. Estos incluyen hiperglicemia, reducción del hematocrito debido a secuestro esplénico, actividad antisecretoria gastrointestinal y efectos teratogénicos en ratas y ratones.
- La clorpromazina en conejos no se recomienda, ya que produce severa miositis y parálisis.

B. Diazepan.

- Aumenta el riesgo de malformaciones congénitas en el primer trimestre de la gestación y en el último trimestre, altas dosis, producen pérdida de fetos.
- Se transfiere en leche materna, en recién nacidos el sistema enzimático involucrado en la degradación del medicamento no está completamente desarrollado.
- Provoca fatiga, somnolencia, debilidad muscular, generalmente relacionadas con la dosis. Estos fenómenos ocurren predominantemente al principio de la terapia y usualmente desaparecen con la administración prolongada. También se puede presentar ataxia, estado alerta reducido, confusión, estreñimiento, depresión, diplopia, disartia, alteraciones gastrointestinales, dolor de cabeza, hipotensión, incontinencia, aumento o disminución del líbido, náuseas, boca seca o hipersalivación, reacciones cutáneas, temblores, retención urinaria, mareos en casos muy raros, transaminasas derivadas y fosfatasa alcalina, así como casos de ictericia.
- El diazepam no es soluble en agua, por lo que es diluido en propilenglicol; en casos de aplicación endovenosa puede presentarse trombosis venosa, flebitis, irritación local, hinchazón o con menor frecuencia cambios vasculares. La inoculación intramuscular puede provocar dolor local, en ocasiones acompañada de eritema en el sitio de inoculación.
- Puede llegar a modificar valores de gama-glutamil-transpeptidasa y de la glucosa, así como los resultados de las pruebas de función tiroidea.
- En conejos y ratones produce depresión respiratoria, sólo si se excede la dosis.

C. Xilazina (Hidrocloruro de Xilazina).

- Puede provocar contracciones uterinas, reduciendo el porcentaje de implantaciones en hembras sujetas a transplantes embrionarios.
- Al final de la gestación puede predisponer a partos prematuros. En caso de su uso para procedimientos obstétricos deben ser utilizadas las dosis mínimas para evitar la depresión general del producto.



Puede fomentar la retención placentaria.

- Puede provocar hiperglicemia transitoria.
- Los bloqueadores adrenérgicos de receptores 2 alfa, como la yohimbina y la tolazolina son antagónicos y en cierta manera sirven como antídotos. La vitamina C, también tiene cierto efecto antagónico.
- Al inicio, después de su aplicación, puede elevar la presión sanguínea, aunque posteriormente puede reducir la presión arterial media en un 15 a 20 % y probablemente una disminución de la frecuencia cardiaca del 30%.
- Debido a que induce un efecto diurético, no debe administrarse en pacientes hipovolémicos o con obstrucción urinaria.
- Por producir emesis no debe aplicarse en individuos con obstrucción esofágica, torsión de estómago, hernia, así como afecciones pulmonares.
- Puede reducir el volumen y la frecuencia respiratoria; esta reducción será más grave si el animal se encuentra postrado. También será grave si se aplica sin previo ayuno del animal.
- Ocasiona ligeros temblores musculares, bradicardia con bloqueo cardiaco A-V, disminución de la frecuencia respiratoria. Movimientos bruscos debidos a estímulos auditivos.
- Produce hipotensión y bradicardia en ratas conscientes e hipertensión en ratas anestesiadas con uretano.
- Otros reportes de los efectos farmacológicos de la xilazina, incluyen un prolongado tiempo de tránsito gastrointestinal en varias especies, incluyendo ratones, posiblemente debido a la inhibición de la liberación de acetilcolina.
- Probablemente un efecto generalizado alfa 2, sobre el páncreas provoque poliuria en ratas, hipotermia en monos Rhesus, hipoinsulinemia e incremento del glucagón plasmático y glucosa sanguínea.
- Incrementa la hormona del crecimiento y disminuye la hormona antidiurética, incrementa la prolactina en suero y altera la testosterona en ratas después de la decapitación.

D. Ketamina.

- No usar en casos de hipertensión intracraneal, glaucoma, tratamiento con agentes organofosforados, descompensación cardiaca y deficiencia renal aguda.
- Cuando se utiliza con halotano, la ketamina puede producir hipotensión.
- Los agentes inhalados prolongan la duración de la acción de la ketamina.
- Conjuntamente con la administración de un opiáceo se produce apnea.
- Por la capacidad de aumentar la presión intraocular, no se administra cuando existen lesiones oculares.
- Contraindicado en enfermedades coronarias e hipertensión pulmonar.
- En animales con depleción de catecolaminas (enfermedades crónicas), se manifiesta el efecto cardiodepresor, tampoco esta indicada en cirugías óseas e insuficiencia renal o hepática.
- Otras reacciones ocasionales son diplopia, anorexia, vómito y exantemas transitorios.
- Hipotermia en ratas.
- Incrementa la actividad de la renina sérica.



Altera la hormona folículo estimulante y testosterona en ratas, después de la decapitación.

- Pequeño decremento en el hematocrito y las proteínas plasmáticas, gran decremento de leucocitos (principalmente linfocitos).
- Incrementa la formación de úlceras.

E. Sevofluorano.

- La principal desventaja es su rápida inducción y recuperación, con respecto a sus antecesoros.
- Deprime la función respiratoria.
- Deprime la presión sanguínea, pero mantiene la función cardíaca.
- En algunos casos puede producir bradicardia con altas dosis.
- Menos del 5% del sevofluorano absorbido es metabolizado por el citocromo P-450 isoforma 2E1 a hexafluoro-2-propanol, con liberación de fluoruro inorgánico (HFIP) y CO₂. El HFIP es conjugado con glucurónidos y se elimina con la orina.
- Más del 95% del sevofluorano absorbido es eliminado, a través de los pulmones.
- Potencializa la acción de relajantes musculares, los depresores del sistema nervioso central y el óxido nítrico. Los analgésicos narcóticos disminuyen la concentración alveolar mínima (CAM) del sevofluorano.
- El sevofluorano es eficaz y seguro cuando se suministra conjuntamente con fármacos que actúan a nivel central, autonómico, relajantes del músculo liso, antiinfecciosos incluidos los aminoglicósidos, hormonas y sustitutos sintéticos, derivados del plasma y agentes cardiovasculares.
- Es compatible con barbitúricos.
- Se ha informado de un aumento en los niveles plasmáticos de flúor inorgánico en adultos, cercano a los 50 micromoles, sin evidencia de toxicidad o disfunción renal.
- Produce elevación transitoria de la glucosa sanguínea.
- En 1% se asocia con agitación, somnolencia, escalofríos, bradicardia, mareo, aumento de la salivación, trastornos respiratorios, hipotensión, taquicardia, laringitis, fiebre y leucocitosis. Además a cambios ocasionales y transitorios en pruebas de función hepática.

F. Pentobarbital sódico.

- No se administre de forma perivascular, ya que los tejidos se pueden irritar.
- No se administre en cesáreas por su acción depresiva del aparato respiratorio afectando al recién nacido.

G. Ácido acetil salicílico.

- En altas dosis produce efectos sobre el sistema nervioso central, como depresión, delirio, psicosis, estupor y coma.
- Después de altas dosis y exposición prolongada se presenta depresión medular, colapso circulatorio secundario a depresión vasomotora y depresión respiratoria.
- Puede producir náusea o vómito; altas dosis pueden provocar ulceración gástrica, hemorragia gastrointestinal y gastritis erosiva.



- Hepatomegalia, anorexia y náusea pueden presentarse en cerca del 5% de humanos con hepatotoxicidad inducida por salicilatos.
 - Interviene en la agregación plaquetaria, por lo tanto prolonga el tiempo de sangrado.
 - Grandes dosis pueden producir hiperglicemia, glicosuria y depresión del músculo y el glicógeno hepático.
 - Dosis tóxicas causan un significativo desbalance del nitrógeno.
 - Los salicilatos reducen la lipogénesis, inhiben la lipólisis en adipositos estimulados por epinefrina y desplaza los ácidos grasos de cadena larga unidos a proteína plasmáticas humanas.
- H. Flumixin meglumina.
 - No exceder el período de tratamiento, así como la dosis. Puede ocurrir irritación y ulceración gástrica.
 - No administrar por vía intramuscular, podría mostrar reacciones adversas, los signos son ataxia, incoordinación, hiperventilación, histeria y debilidad de los músculos. Estos signos son pasajeros y desaparecen sin ningún medicamento después de pocos minutos.
 - No administrarse al mismo tiempo que otro fármaco potencialmente nefrotóxico, especialmente si el animal está deshidratado o hipotenso.
 - Afecta el ciclo estral y el parto, retarda el estro.
 - Es un inhibidor de la ciclooxigenasas, la formación de prostaglandinas y tromboxanos en cualquier situación que agreda tejidos, sin importar el origen.
 - No administrar en animales de menos de tres días de edad.
- I. Butorfanol.
 - Se puede presentar ataxia transitoria.
 - Puede producir dolor en el sitio de la inoculación, midriasis, desorientación y sedación.
- J. Diclofenaco.
 - No se administre en pacientes con alteraciones hemáticas o en animales que hayan estado en contacto con anticoagulantes.
 - En pacientes que hayan recibido con anterioridad terapia con otros antiinflamatorios no esteroideos, se sugiere esperar dos días antes de administrar este producto.
 - Inhibe la biosíntesis de prostaglandinas que son los responsables de la aparición de inflamación, dolor y fiebre.
 - Con todos los antiinflamatorios no esteroideos puede causar en forma ocasional dolor por irritación gástrica, vómito, diarrea, calambres abdominales y anorexia en tratamientos prolongados.
 - Prolonga el tiempo de sangrado.
- K. Ketoprofeno.



Como todos los antiinflamatorios no esferoidales está contraindicado en casos de insuficiencia renal severa, asociado con otros antiinflamatorios no esferoidales y con diuréticos o anticoagulantes.

- No se administre en yeguas gestantes, ni en animales menores a 15 días.
- Causa erosiones gastrointestinales en animales experimentales y produce efectos gastrointestinales colaterales en los humanos.
- Altera la función plaquetaria y prolonga el tiempo de sangrado.

4. Terminación apropiada de los experimentos en animales.

Cualquier dolor o sufrimiento o incomodidad real o potencial deberá minimizarse o aliviarse seleccionando un punto final adelantado que sea compatible con los objetivos científicos de la investigación. La selección de este punto requiere que el investigador consulte al médico veterinario responsable, o al Comité. La referencia primaria para determinar el punto final en los experimentos es la "Norma sobre la selección del punto final apropiado en los experimentos en que se utilizan animales para investigación científica, enseñanza y pruebas de laboratorio" editada por el Canadian Council on Animal Care en 1998.

5. Eutanasia.

Los métodos de sacrificio humanitario adoptados deberán ser acordes con los criterios del Comité. Deberán ser realizados por personal o estudiantes capacitados. Actualmente no existe un método de sacrificio humanitario aplicable a todas las especies y circunstancias científicas. En el siguiente cuadro se muestran los principales métodos recomendados por el Comité, de acuerdo a la especie.

Método	Ratón	Consideraciones por Especie	
		Rata	Conejo
Pentobarbital Sódico	210 mg/kg IV - IP	120 mg/kg IV - IP	120 mg/kg IV
Dislocación Cervical	Condicionado	Menores de 200 g	Menores de 1 kg
Asfixia con CO ²	Aceptado	Aceptado	Condicionado a sedación o anestesia
Decapitación	Condicionado	Condicionado	Prohibido
Pistola de Embolo Oculto	Prohibido	Prohibido	Condicionado

6. Técnicas Experimentales:

Incluyen todos aquellos procedimientos que involucren el uso de animales con fines experimentales, docentes o como prueba de control, a continuación, se presentan las principales.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



A. Cirugía.

Las actividades propuestas que involucren procedimientos quirúrgicos deberán brindar cuidados pre y postoperatorios, así como la atención durante el transoperatorio, apegados a los procedimientos descritos en el programa institucional, y basados en la práctica veterinaria actuales.

Todas las cirugías con supervivencia del animal deberán realizarse observando protocolos asépticos, incluyendo el uso de ropa, máscaras quirúrgicas, guantes e instrumental estériles y de técnicas asépticas. Las intervenciones de cirugía mayor por ejemplo, aquellas que involucran una cavidad corporal o producen el deterioro sustancial de las funciones tales como (tales como laparotomía, toracotomía, craneotomía, reemplazo de articulaciones o amputaciones de miembros), en especies animales que no sean roedores sólo podrán realizarse en instalaciones destinadas a ese propósito (quirófanos o áreas especiales para técnicas experimentales), las cuales deberán mantenerse y operarse en condiciones asépticas y bajo supervisión del Comité.

Las cirugías sin supervivencia del animal y las menores, es decir aquellas que o exponen cavidades corporales o causen un deterioro físico menor o nulo (tales como sutura de heridas, canulación de vasos periféricos y en general los procedimientos de la práctica veterinaria realizados en paciente ambulatorios) y todas aquellas que se realizan en roedores, no necesitan llevarse a cabo en instalaciones especializadas, pero si deberán pegarse a procedimientos asépticos y humanitarios.

Ningún animal deberá someterse a intervenciones quirúrgicas mayores con supervivencia más de una vez. El Comité considera más equitativo sacrificarlo humanitariamente y repetir el procedimiento en otro sujeto. Las excepciones a este lineamiento deberán ser argumentadas científicamente por el investigador o profesor por escrito. Caso aparte serán aquellos procedimientos, que forman parte del tratamiento veterinario, enfocados a conservar la salud y bienestar del animal.

B. Toma de Muestras.

La obtención de sangre de los animales debe realizarse de la forma más humanitaria y eficiente posible de tal modo que el dolor, sufrimiento o incomodidad se mantenga al mínimo.

C. Administración de Fluidos.

Al administrar sustancias a los animales por cualquier vía el objetivo debe ser lograr la “mejor práctica”, ya que los errores en cualquier momento pueden causar sufrimiento. El cual es evitable. La “mejor práctica” se refiere a minimizar o evitar los efectos adversos, reducir el número de animales utilizados y maximizar la calidad y aplicabilidad de los resultados.



Algunos sitios de venopunción y venodisección en las principales especies de laboratorio se presentan en el siguiente cuadro:

	Auricular	Vena de la Cola	Coccígea	Femoral	Yugular	Punción Cardíaca
Ratón	+	+++	++	+/-	-	-
Rata	-	+	+++	-	++	+
Conejo	+++	-	-	-	+	+/-

D. Producción de Anticuerpos.

En la producción de anticuerpos policlonales la principal consideración debe ser minimizar el dolor y el sufrimiento de los animales empleados.

En la producción de anticuerpos monoclonales se debe favorecer el uso de anticuerpos disponibles (comerciales o donados) o producidos por métodos *in vitro*. Por lo tanto, todas las propuestas de producción de anticuerpos monoclonales usando la cavidad peritoneal del animal para la producción de líquido ascítico requiere la justificación ante el Comité.

Ante la inminencia en la utilización de roedores para la producción de anticuerpos monoclonales, es necesario documentarse con la guía "Monoclonal Antibody Production" del Committee on Methods of Producing Monoclonal Antibodies, Institute for Laboratory Animal Research del National Research Council USA (1999).

7. Guía para la Evaluación del Dolor.

Los protocolos de investigación o docencia que involucran animales deberán evitar o reducir la incomodidad, el sufrimiento y el dolor. La valoración del dolor y el sufrimiento en los animales es un procedimiento complejo, sin embargo, esta no es ninguna razón para no realizarlos y una vez determinado el nivel minimizarlo mediante la administración de analgésicos. La valoración del dolor es responsabilidad del observador, el cual cuidadosamente determina y registra cada uno de los signos. Al final suma todos los puntos. Mientras mayor sea el número resultante, el procedimiento es considerado más agresivo. Muchos experimentos son valoraciones de otros realizados con anterioridad, en cuyo caso se pueden tomar evaluaciones previas. En el caso de experimentos con metodología novedosa deberán realizarse pruebas piloto.

A. Cuestionario para la Evaluación del Dolor.

Parámetro	0	1	2	3
Peso corporal				
Apariencia				
Signos clínicos				
Temperatura corporal				



Frecuencia cardiaca				
Frecuencia respiratoria				
Conducta				
Espontánea				
Provocada				

B. Peso corporal.

- 0. Igual o incrementado, consumo normal de agua y alimento, excretas normales.
- 1. No se mantiene la ganancia de peso, reduce su peso corporal en 5% del peso registrado previamente.
- 2. El animal continúa comiendo y bebiendo, pero su peso disminuye en 10 a 15%, las heces pueden alterarse en cantidad y consistencia.
- 3. Suspensión del consumo de agua y alimento. La pérdida de peso es superior al 20%.

C. Apariencia.

- 0. Normal, el pelaje es suave, terso, lustroso, los ojos son claros y brillantes.
- 1. Falta de acicalamiento, pero sin otro cambio.
- 2. Pelaje hirsuto, ojos y nariz con secreciones.
- 3. Orificios naturales sucios, posturas anormales, por ejemplo, encorvados con ojos pálidos y pupilas dilatadas.

D. Signos clínicos.

- 0. La temperatura corporal y las frecuencias cardiaca y respiratoria se presentan dentro de los parámetros fisiológicos normales, comúnmente se presentan frecuencias elevadas debidas a la manipulación, por lo tanto son eliminadas. Los miembros se encuentran tibios, las membranas mucosas y zonas no pigmentadas son normales.
- 1. Cambios mínimos en los parámetros.
- 2. Aumento o disminución de 1 a 2 °C en la temperatura corporal y en 30% en las frecuencias cardiaca y respiratoria.
- 3. Aumento o disminución de más de 2 °C en la temperatura corporal y en el 50% de las frecuencia cardiaca y respiratoria.

E. Conducta espontánea.

- 0. Patrón normal de conducta.
- 1. Cambios menores.
- 2. Conducta anormal, menor movilidad y menos alerta de lo normal, inactividad cuando se esperarí actividad y viceversa, por ejemplo, episodios de ingestión de alimento durante la fase crepuscular de actividad de los roedores o cuando se alojan en grupo, el animal se aísla de sus compañeros en la jaula.
- 3. Vocalizaciones espontáneas, automutilación extrema, ruidos respiratorios. Muy activo o totalmente inmóvil.



F. Conducta provocada.

- 0. Respuestas conductuales normales para las condiciones esperadas.
- 1. Muestra algunas depresiones o exageraciones menores en las respuestas.
- 2. Muestra signos moderados de respuestas anormales, puede haber cambios de la conducta.
- 3. El animal reacciona violentamente a los estímulos o bien las respuestas musculares pueden ser muy débiles, tales como aquellos estados precomatosos

G. Factor de ajuste.

Si tiene un marcador de 3 más de una vez, se agrega un punto por cada 3, en la sumatoria final.

H. Tabla de correspondencia.

Suma Total	Consideración Ética	Categoría del Procedimiento
0 - 4	Normal.	A
5 - 9	Monitoreo frecuente y considerar analgesia.	B
10 - 14	Sufrimiento, uso necesario de analgésicos.	C - D
15 o más	Dolor severo. Considerar replantear el protocolo.	E