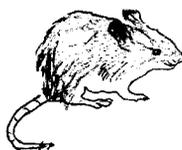


AJUNTAMENT DE BARCELONA

# TREBALLS DEL MUSEU DE ZOOLOGIA

Directrices para el cuidado y manejo  
de animales de experimentación

UFAW, LASA & The Royal Society



BARCELONA 1993 NÚMERO 6

Títulos originales:

(Capítulo 1) *Guidelines on the handling and training of laboratory animals*

© 1992. UFAW (Universities Federation for Animal Welfare), 8 Hamilton Close, South Mimms, Potters Bar, Herts EN6 3QD, Reino Unido.

(Capítulo 2) *Housing and care*

© 1987. The Royal Society, 6 Carlton Terrace, London SW1Y 5AG, Reino Unido; UFAW (Universities Federation for Animal Welfare), 8 Hamilton Close, South Mimms, Potters Bar, Herts EN6 3QD, Reino Unido.

(Capítulo 3) *Pain, analgesia and anaesthesia*

© 1989. UFAW (Universities Federation for Animal Welfare), 8 Hamilton Close, South Mimms, Potters Bar, Herts EN6 3QD, Reino Unido.

(Capítulo 4) *Surgical procedures*

© 1989. LASA (Laboratory Animal Science Association), 20 Queensberry Place, London SW7 2DZ, Reino Unido; UFAW (Universities Federation for Animal Welfare), 8 Hamilton Close, South Mimms, Potters Bar, Herts EN6 3QD, Reino Unido.

(Capítulo 5) *Planning and design of experiments*

© 1990. LASA (Laboratory Animal Science Association), 20 Queensberry Place, London SW7 2DZ, Reino Unido; UFAW (Universities Federation for Animal Welfare), 8 Hamilton Close, South Mimms, Potters Bar, Herts EN6 3QD, Reino Unido.

Traducción de Javier Fernández de Castro

Corrección técnica del Prof. Dr. Mariano Illera Martín

Ilustraciones de Mariona Omedes

*Treb. Mus. Zool. Barcelona 6, 1994*

Secretaria de redacció: A. Omedes

Asistente de secretaría: M. Ferrer

Consejo de redacció: O. Escolà, A. Omedes, J. Piqué, J.C. Senar y F. Uribe

© 1993, Museu de Zoologia, Ajuntament de Barcelona.

Parc de la Ciutadella, Ap. 593, 08080 Barcelona.

Edita: Regidoria d'Edicions i Publicacions

Composició i fotolits: Romargraf, S.A.

Imprimeix: Impremta Municipal

ISBN: 84-7609-681-X

Dipòsit legal: B-29.176-1994

Exp.: 9463647

## PRESENTACIÓN

A menudo la maquinaria científica ha sido juzgada simplemente a tenor de los beneficios que es capaz de reportar, con independencia del proceso que se haya seguido para alcanzarlos. En los últimos tiempos, sin embargo, el trabajo investigador es evaluado en términos de rentabilidad, con especial énfasis por conocer el precio al cual se obtienen los resultados. De este modo el rendimiento científico está siendo progresivamente controlado a medida que los órganos de poder y el cuerpo social otorgan al investigador un papel cada vez más influyente en la organización comunitaria. En consecuencia se presiona para transparentar el gasto y la aplicabilidad del conocimiento científico, pero al tiempo se continúa ignorando cómo cocina el investigador los recursos que se le ponen a disposición; para el común de la gente el laboratorio científico está más cerca de la chistera de un mago que de un espacio con pasiones humanas.

En la actualidad existe una corresponsabilización entre comunidad científica y representantes sociales respecto las condiciones generales de los contratos o subvenciones para la realización de proyectos científicos. Políticos, agentes económicos y científicos acuerdan y proveen de antemano los recursos a invertir y el conocimiento que se espera generar; asimismo, a posteriori se consideran las desviaciones sobre lo previsto y se acomodan nuevas fases de trabajo.

Quizás con cierto retraso ha llegado también la hora de extender la corresponsabilización al propio desarrollo del proceso investigador en los aspectos cuya dimensión ética merezca ser tenida en cuenta.

El presente volumen de “Treballs del Museu de Zoologia” pretende, con toda modestia, dar a conocer criterios y consejos prácticos a aplicar concretamente en los laboratorios de experimentación animal, en el mismo interior de la caja negra del investigador. Sin duda, el principal mérito de esta publicación reside en que parte de una iniciativa impulsada por los propios científicos. La *Universities Federation for Animal Welfare* (UFAW) [Federación universitaria para el bienestar animal], integrada por profesores de investigación de diversos centros universitarios europeos, ha redactado un conjunto de

recomendaciones que contemplan el vasto panorama de la experimentación animal. La versión castellana de estos criterios de actuación es la que se presenta ahora, con la virtud en este caso de haber reunido en un solo texto lo que originalmente eran documentos distribuidos por separado.

Este tramado de información práctica tiene un espléndido y oportuno colofón en el informe redactado por los Drs. Isabel Pont y Josep M<sup>a</sup> de Dios sobre el contexto legal a que debe someterse la experimentación con animales en España. Aún siendo un ámbito legal poco elaborado todavía en nuestro país, era necesario describir el punto de partida para quedar a la espera de acontecimientos en el ordenamiento jurídico que afecten al cuidado y manipulación de animales.

Por último es obligado constatar que la presente publicación no hubiera sido posible sin el decidido apoyo del Dr. Trevor Poole de la UFAW, quien en estrecha colaboración con la Dra. Anna Omedes (Secretaria del Consejo de Redacción de esta revista) han limado todas las dificultades que podían suscitarse hasta hacerlas desaparecer. Con igual convicción me place subrayar la calidad y esmero puestos en la traducción del inglés al castellano realizada por el Sr. Javier Fernández de Castro así como en el asesoramiento científico del Dr. Mariano Illera, con quien se completa el cuadro de honor de este volumen de la revista "Treballs del Museu de Zoologia".

Dr. Francesc Uribe  
Director

febrero 1993

# ÍNDICE

<b>PREFACIO</b> .....	11
<b>PRÓLOGO</b> .....	13
<b>1. MANEJO Y ADIESTRAMIENTO</b> .....	17
Los beneficios de un buen manejo y adiestramiento .....	19
Familiarización y manejo .....	20
Familiarizar al animal con su cuidador .....	20
Manejo .....	21
Sujección .....	22
Precauciones contra heridas o enfermedades .....	23
Adiestramiento para la cooperación en experimentación .....	24
Definición de adiestramiento .....	24
Tipos de aprendizaje utilizados en el adiestramiento .....	24
Disciplina y control .....	25
Coherencia .....	26
Limitaciones en la capacidad de aprender de un animal .....	26
Manejo y adiestramiento de diferentes tipos de animales .....	27
Mamíferos .....	27
Aves .....	30
Reptiles .....	31
Anfibios .....	32
Instrucción de los cuidadores .....	32
Conclusiones .....	33
<b>2. ALOJAMIENTO Y CUIDADOS</b> .....	35
Alojamiento y entorno .....	38
El animalario .....	38
El entorno .....	42

Cuidado y salud de los animales .....	48
Fuentes de suministro de animales .....	48
Transporte .....	49
Cuidado y alojamiento .....	51
Salud de los animales .....	62
Sacrificio humanitario de animales .....	64
Métodos de eutanasia .....	64
Eliminación de animales muertos .....	66
Conclusión .....	67
<b>3. DOLOR, ANALGESIA Y ANESTESIA .....</b>	<b>69</b>
Dolor .....	72
Descripción y definiciones .....	72
Síntomas de dolor .....	72
Control del dolor .....	73
Analgesia .....	74
Terapéutica analgésica .....	74
Opiáceos .....	74
Fármacos antiinflamatorios no esteroides (NSAID) .....	75
Analgésicos locales .....	76
Anestesia .....	76
Principios generales .....	76
Anestesia equilibrada .....	77
Preparación preanestésica .....	77
Medicación preanestésica .....	78
Neuroleptanalgesia (NLA) .....	78
Inducción a la anestesia .....	79
Mantenimiento de la anestesia .....	80
Valoración de la profundidad de la anestesia .....	82
Bloqueantes neuromusculares .....	82
Cuidados postanestésicos .....	83
Conclusión .....	84
<b>4. PROCEDIMIENTOS QUIRÚRGICOS .....</b>	<b>85</b>
Conceptos generales .....	87
Planificación .....	88
Generalidades .....	88
Evitar la infección .....	89
Quirófanos .....	89
Instrumental y esterilización .....	90

Preliminares .....	90
Selección e identificación del animal .....	90
Aclimatación y acondicionamiento del animal .....	91
Examen clínico .....	91
Preparativos preoperatorios .....	92
Preparación y ejecución de la operación .....	92
Anestesia .....	92
Estándar quirúrgico .....	93
Preparación de la piel .....	93
Preparación del cirujano .....	93
Preparación del campo operatorio .....	93
Técnicas quirúrgicas .....	94
Cierre de heridas .....	94
Vigilancia y mantenimiento durante la operación .....	95
Recuperación .....	96
Dependencias y tratamiento .....	96
Profilaxis .....	97
Cuidados postoperatorios .....	97
Conclusión .....	98
<b>5. PLANIFICACIÓN Y DISEÑO DE EXPERIMENTOS .....</b>	<b>99</b>
Conceptos generales .....	101
Planificación .....	102
Selección de especies y razas .....	103
Instalaciones del laboratorio .....	104
Diseño de experimentos .....	105
Tipos de diseño .....	106
Controles .....	108
Número de animales .....	108
Aleatoriedad .....	109
Alojamiento .....	110
Animales .....	111
Cuidados veterinarios .....	111
Resultados .....	112
Análisis .....	112
Informe de resultados .....	113
Conclusión .....	114
<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>115</b>
<b>NORMATIVA VIGENTE EN EL ESTADO ESPAÑOL .....</b>	<b>125</b>

## PREFACIO

La presente guía fue publicada inicialmente en 1987 para complementar la nueva ley británica *Animals (Scientific Procedures) Act, 1986* [Ley de los animales (procedimientos científicos), 1986)], que aplicaba las disposiciones del *Convenio europeo sobre protección de los vertebrados utilizados con fines experimentales y otros fines científicos* (COUNCIL OF EUROPE, 1986).

Las consultas preparatorias habían empezado de hecho en 1983 en Europa bajo un Comité de Expertos del Consejo de Europa, y en el Reino Unido con un simposio sobre estándares en el manejo de animales de laboratorio organizado conjuntamente por la *Universities Federation for Animal Welfare* (UFAW) [Federación universitaria para el bienestar animal] y la *Laboratory Animal Science Association* (LASA) [Asociación científica de animales de laboratorio]. Después de lo cual, UFAW y LASA, conjuntamente con *The Royal Society* [La Real Sociedad], invitaron a grupos de especialistas a preparar unas guías que establecieran los principios básicos para el cuidado de animales y la realización de experimentos. Dichas guías estaban pensadas para ser usadas por toda persona responsable de animales de laboratorio y particularmente por aquellas que trabajasen bajo la autoridad de la nueva legislación.

El capítulo 1 corresponde a una publicación de la UFAW preparada por *The Biological Council Animal Research and Welfare Panel* [Comité para la investigación y bienestar animal de la junta biológica], sobre Manejo y Adiestramiento.

El capítulo 2, sobre Alojamiento y Cuidado, está basado en general en el Apéndice A de la Convención Europea, que estaba considerado por el Consejo de Europa como unas “recomendaciones a ser utilizadas con criterio, designadas como guías para prácticas y como estándares que toda persona implicada debiera tratar de alcanzar. Más adelante esta sección fue utilizada como base para el Código de Práctica publicado por el Gobierno del Reino Unido (HOME OFFICE, 1989).

Los capítulos 3, 4 y 5 representan un consenso obtenido entre científicos y consejeros trabajando en áreas académicas y comerciales así como entre

sociedades y asociaciones directamente interesados. Asimismo tienen en cuenta la opción pública y el punto de vista de los cuerpos gubernamentales establecidos por la ley, tales como el *Animal Procedures Committee* [Comité de procedimientos con animales] y el *Home Office Inspectorate* [Inspectorado del Ministerio del Interior].

La legislación proporciona el marco para la protección de animales de laboratorio. La responsabilidad del trato adecuado a los animales recae sobre quienes los manejan. La UFAW confía en que esta traducción publicada por el Museo de Zoología de Barcelona, ayude a los lectores de habla hispana a cumplir tales obligaciones y por lo tanto a avanzar en la causa del bienestar de los animales, en sus respectivos países.

La UFAW quisiera agradecer al Museo de Zoología de Barcelona su entusiasmo y su activo compromiso en el logro de esta publicación.

Trevor B. Poole  
UFAW

septiembre 1992

## PRÓLOGO

Se presenta aquí una completa monografía, referente al cuidado y manejo de los animales utilizados en la experimentación, con la particularidad, positiva, de que abarca a muchas especies animales, ya que, en contra de lo que el gran público puede entender, animales de experimentación son todos y no sólo aquellos que como el ratón, la cobaya o el conejo, se les asocia más como animales de experimentación. Pues bien, en esta monografía se extiende el contenido a animales de granja (vacuno, ovino, porcino, etc.), primates no humanos, aves, reptiles, anfibios, etc.; en una palabra, todas las especies que se pueden utilizar como sujetos activos de la experimentación.

La obra está dividida en varios apartados, dedicando atención preferente a la familiarización del cuidador y el investigador con el propio animal que va a utilizar, luego se instruye a los no iniciados de cómo se debe manejar a los animales, cómo se les debe sujetar y las atenciones que hay que prestarles para evitar que el animal, en su intento de huir o defenderse, pueda lesionar a sus cuidadores. Ocupa lugar preferente el dedicado al adiestramiento de los animales, despertando en ellos lo que se puede definir como un espíritu de cooperación para que el estudio, que en ellos se vaya a realizar, tenga más éxito y por ello se detallan los principales tipos de aprendizaje que existen para el animal, sea cual sea la especie.

En el apartado dedicado al alojamiento y su entorno nos adentramos en las necesidades propias del animal para que se encuentre en un estado adecuado de confort mientras dure la experimentación, se detallan las medidas que deben tener todos los alojamientos dedicados a animales, tanto sean jaulas individuales, como colectivas o recintos exteriores para mantener a animales mayores. Se incluyen asimismo los requisitos que de temperatura, humedad y ventilación deben tener los habitáculos donde se alojen los animales de experimentación, dedicando también atención a la importancia de la iluminación, no sólo en cuanto a la intensidad de la misma sino también a la duración de los ciclos luz/oscuridad, ofreciendo algunos ejemplos de cómo las variaciones de esos

ciclos circadianos pueden influir en los resultados de cualquier tipo de experimentación.

El cuidado y salud de los animales ocupan otro de los grandes apartados de esta monografía. Se detallan las condiciones idóneas que deben de cumplirse para que los animales de experimentación gocen de un buen estado sanitario, mediante la inspección diaria y sistemática, tanto por parte de los cuidadores, como de los propios responsables de la experimentación y bajo el asesoramiento del veterinario encargado del control sanitario. En este apartado se describen las condiciones ideales del transporte de los animales, tanto entre edificios como para distancias más lejanas. Se habla de la importancia de la recepción de animales y su vigilancia mediante cuarentenas. La alimentación ocupa otro lugar destacado y, sin entrar en minuciosos detalles de las necesidades de cada especie, se insiste en los principios básicos de la nutrición y su importancia en el estado del animal. La forma y manera de administrar el agua a los animales también se aborda en las páginas de esta interesante monografía.

Otro capítulo que no podía faltar es el dedicado al dolor, analgesia y anestesia ya que en toda experimentación debe prevalecer el principio de que a los animales que vayan a intervenir en la misma, bajo ningún concepto, les debe afectar el dolor, sufrimiento y molestias de la experimentación; ya que cuando se presenten tales circunstancias se deberán adoptar las medidas pertinentes para evitarlas mediante el uso de sustancias farmacológicas, si están indicadas, o utilizando métodos de manejo y sujeción que no sean estresantes para los animales. Dentro de este capítulo se habla de la neuroleptanalgesia como método ideal preparatorio para una posterior anestesia del animal y que no es muy frecuente encontrar como tal apartado en otras publicaciones similares. Se habla también de los cuidados postanestésicos para casi todo tipo de animales y se instruye sobre la forma de administrar las sustancias analgésicas y anestésicas de diverso tipo. Este capítulo, sin duda, viene a ser una introducción del siguiente que trata de la planificación, preparación y ejecución de los procedimientos quirúrgicos y aunque en esta publicación sólo se incluyen conceptos y consejos de tipo general, el lector podrá encontrar unas citas bibliográficas muy útiles por si desea adentrarse con más detalle en este campo.

La planificación y diseño de los experimentos ocupa una parte destacada de esta publicación resaltando la importancia que tiene una adecuada planificación para que los resultados puedan ser tratados estadísticamente y por tanto posean la validez que los mismos se esperaba. Se indican los distintos tipos de diseños: simples, cruzados, doble ciegos, cuadrado latino, etc. e incluso se insiste en las variaciones que puedan surgir según estén colocadas las torres portadoras de las jaulas conteniendo los animales, las diferencias que pueda haber de unos habitáculos a otros etc. Consideramos de suma utilidad cuanto se indica en este capítulo cuando es muy frecuente que el investigador en su afán de estudiar la problemática que la experimentación le plantee acude de una manera

un tanto precipitada a efectuar la experimentación, sin pararse a pensar qué tipo de resultados va a obtener y, lo más importante qué tratamiento estadístico va a poder aplicar. Todos hemos sido testigos, por desgracia alguna vez de cómo después de un exhaustivo trabajo experimental los resultados no han podido ser tratados estadísticamente de forma correcta con lo que se ha logrado perder tiempo, dinero, etc. sin obtener el beneficio esperado.

En suma nos encontramos ante una publicación que va a ocupar lugar destacado en la biblioteca de cualquier investigador que utilice animales dada la utilidad que esperamos va a tener. Hasta hace muy poco tiempo en España no se ha dedicado ningún tipo de atención a adiestrar y enseñar a las distintas personas encargadas de manejar animales de experimentación para que estos recibieran los cuidados y atención precisos. Es verdad que muchos de estos investigadores han acudido a centros de reconocido prestigio internacional a recibir esas enseñanzas. Ahora de poco tiempo a esta parte en algunas Universidades se vienen desarrollando cursos y cursillos de capacitación, a distinto nivel destacando entre todo el que impartimos en la Universidad Complutense: *Master de Experimentación y Protección Animal* por el amplio contenido de su programa y el carácter eminentemente práctico que éste tiene.

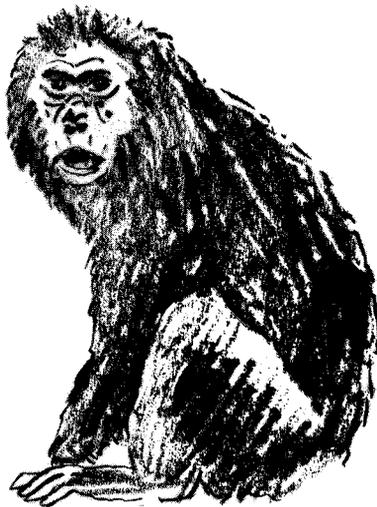
El lector podrá quedar extrañado porque a lo largo de la monografía se citan una gran cantidad de Instituciones y Asociaciones, dedicadas al cuidado y atención de los animales de experimentación; incluso se habla de un cuerpo de inspectores, veterinarios autorizados, responsables debidamente formados, etc. que contrasta con lo que acontece aquí en España donde todavía no se han iniciado las gestiones de inscripción, e inspección, etc. de los establecimientos dedicados a la cría, establecimientos suministradores, establecimientos usuarios, etc. que señala el Real Decreto 232/88, que prácticamente es la única legislación que existe al respecto en España, lo que contrasta con la existente en otros países.

Es de justicia felicitar al Museu de Zoologia del Ayuntamiento de Barcelona por la iniciativa de publicar tan interesante monografía que como hemos dicho antes ocupará lugar destacado y será publicación muy útil para la formación y consulta de cuantos nos dedicamos a la experimentación animal.

Prof. Dr. Mariano Illera Martín  
Catedrático-Director  
Departamento de Fisiología Animal  
Universidad Complutense de Madrid

enero 1993

## 1. MANEJO Y ADIESTRAMIENTO



## **1. MANEJO Y ADIESTRAMIENTO**

Este capítulo tiene como objetivo elevar los estándares de experimentación y cuidado de los animales de laboratorio cubriendo un área que suele ser olvidada, la del manejo y adiestramiento de animales. La forma en que es tratado un animal en el laboratorio puede influir no sólo en su éxito de cría y en su tasa de crecimiento, sino también en la calidad y los resultados de los trabajos experimentales que con él se realicen. Tanto desde el punto de vista científico como del ético los animales de laboratorio deberían ser objeto del mínimo estrés; las técnicas adecuadas de manejo y adiestramiento son métodos importantes para reducir el nerviosismo y fundamentar la confianza del animal.

### **LOS BENEFICIOS DE UN BUEN MANEJO Y ADIESTRAMIENTO**

Todos los animales responden de alguna manera al acercamiento o la presencia de un ser humano, pero en el caso de la mayoría de mamíferos, esa respuesta está modificada por el conocimiento previo de la persona en cuestión. Casi todos los animales de laboratorio reconocen a los seres humanos individualmente y se ponen nerviosos ante los extraños. Aquellos que los conocen deberían, por tanto, acercárseles de forma suave pero firme, dándoles la oportunidad de reconocerles. Un cuidador no familiarizado con los animales debería hacer los arreglos necesarios para tener repetidos contactos con ellos antes de llevar a cabo ningún estudio, con vistas a establecer una relación amistosa y familiar.

Cualquiera que sea el procedimiento a ejecutar, el conocimiento previo por parte del animal de las personas implicadas eliminará una poderosa fuente de aprensión. Esto permitirá muchas veces llevar a cabo procedimientos potencialmente dolorosos con escasa o nula reacción por parte del animal. A los animales confiados se les puede sacar sangre, suturar heridas, etc, sin necesidad de inmovilizarlos. Todo hace pensar que el manejo adecuado por parte de un personal familiar no sólo elimina las huidas y reacciones defensivas del animal

sino que reduce asimismo su nivel de percepción del dolor.

Las técnicas adecuadas de manejo benefician asimismo a aquellos que se ocupan de los animales, pues reducen los riesgos de mordeduras y arañazos. Los animales que cooperan facilitan su cuidado y los animales tranquilos y confiados no sólo aseguran el bienestar de los mismos sino que hacen que los experimentos sean más sencillos de realizar.

Un manejo experto por parte de personal familiarizado con los animales es particularmente importante con animales que estén nerviosos, con animales que intervengan en experimentos prolongados y con los de las colonias de cría. Las especies que no han sido domesticadas, tales como las de primates, pueden en ocasiones ser físicamente difíciles de manejar, y en este caso es importante entrenarlas para que cooperen voluntariamente.

Adiestrar animales para que lleven a cabo comportamientos adecuados, cuando se les requiera, o incluso responder a órdenes, es asimismo deseable en el laboratorio y es muy rentable con animales que deban estar en él durante un tiempo prolongado, particularmente al facilitar la cooperación en procedimientos experimentales, veterinarios o de cría. Cuando los animales deban ser alojados individualmente, el contacto con el cuidador es de valor incalculable, ya que el ser humano puede actuar como sustituto de la compañía de uno de su especie.

## **FAMILIARIZACIÓN Y MANEJO**

### **FAMILIARIZAR AL ANIMAL CON SU CUIDADOR**

Muchos animales defienden en torno a sus cuerpos un área específica a la que se denomina “espacio social”. Cualquier intrusión en ese área puede provocar el ataque o la huida del animal frente al intruso.

Normalmente, los únicos que tienen acceso al espacio social son la pareja, crías, parientes próximos y amigos. El cuidador debe ganarse primero la confianza del animal para que este le admita como a un amigo en su espacio social; este es el primer paso en la relación con el animal para conocerle.

Es muy importante permitir que el animal se aproxime espontáneamente al cuidador; cuando lo haga, la persona debe ofrecer una de las partes menos vulnerables de su cuerpo para que el animal la examine, por ejemplo el dorso de la mano. Cuando animales de cierto tamaño, como perros, monos o aves de corral, se muestren remisos a aproximarse, el cuidador debe ponerse en cuclillas; ello reduce la talla de la persona e incrementa la confianza del animal. Para la mayoría de los mamíferos el sentido primordial en el reconocimiento individual es el olfato, de forma que habitualmente investigan primero la mano y luego prosiguen la inspección en otras áreas de piel al descubierto. Los roedores

pequeños pueden subirse a la mano e incluso trepar por el brazo. Es aconsejable mantenerlos alejados de las partes del cuerpo en las que un simple mordisqueo exploratorio puede provocar molestias o heridas.

Se puede reforzar la confianza ofreciendo trocitos de comida y permaneciendo quieto hasta que el animal se familiarice con el cuidador. De entrada se puede ganar la confianza del animal acariciándole o rascándole a través de los barrotes de la jaula, con lo cual se impregnan del olor del cuidador tanto la jaula como el animal. Si el contacto físico queda excluido por razones de seguridad, una alternativa adecuada es entrenar a los animales a coger la comida de la mano.

El éxito de la familiarización depende de la confianza que se establezca entre animal y cuidador. Suavidad, paciencia, movimientos lentos y deliberados y un comportamiento predecible generarán confianza y crearán un vínculo entre animal y cuidador. A menudo es más fácil familiarizar a animales jóvenes, porque puede que aún no hayan desarrollado completamente su respuesta al miedo y acepten a las personas como parte del entorno familiar. Ello se refiere incluso a los animales domesticados, tales como perros y gatos. Incluso los animales acostumbrados a los humanos tienen que desarrollar confianza en determinadas personas, y es importante comprender que, con la posible excepción de los ratones, los mamíferos de laboratorio reconocen a los humanos individualmente y muestran frente a ellos diferentes actitudes.

La clase de relación que se establezca puede depender también del comportamiento social natural del animal. La mayoría de primates, por ejemplo, son conscientes del sexo del cuidador y su actitud puede quedar influida por las relaciones sociales normales dependientes del sexo en su especie. Por ejemplo, las hembras de mono patas (*Erythrocebus patas*) acostumbradas a un determinado cuidador pueden sentir una gran aversión hacia las mujeres que se les aproximen, aunque no hacia otros cuidadores masculinos.

## MANEJO

En la mayoría de especies es posible manejar al animal una vez que este se ha familiarizado y confía en la persona que ha de trabajar con él. Hay que tener siempre en cuenta sin embargo que, inicialmente, la mayoría de animales se muestran remisos a ser manejados, y de ahí la importancia de reducir las subsiguientes tensiones por medio de la familiarización previa.

El primer paso consiste en poder iniciar el contacto físico, por ejemplo rascarle o acariciarle suavemente, sin que el animal adopte un comportamiento huidizo o defensivo. Ese contacto establecerá asimismo, o reforzará, el vínculo afectivo entre animal y cuidador.

Con algunos mamíferos es posible empezar con un juego tranquilo, pero es necesario tomar precauciones porque si el animal se excita demasiado se corre el peligro de que el juego acabe en una auténtica agresión. Si el animal muerde demasiado fuerte el cuidador debe jugar menos vigorosamente; muchos animales volverán entonces a morder más suavemente. Si el animal continúa con los juegos violentos el cuidador debe desistir, o emitir una queja indicativa de dolor. Una norma importante en el juego de los mamíferos es que la fuerza del ataque está directamente relacionada con el vigor de la defensa de su oponente (FAGEN, 1981).

Ya ha sido mencionada la ventaja de manejar animales cuando son jóvenes, pero puede haber problemas asociados al manejo de crías.

Algunas hembras de mamífero (particularmente roedores) pueden matar a sus crías si han sido impregnadas de algún olor extraño provocado por la manipulación. Hay dos técnicas que pueden ayudar a evitar los ataques subsiguientes o el canibalismo de la madre. La primera es tocar a la madre antes de que se reúna con sus crías, pues entonces adquirirá el olor humano y no le será fácil detectarlo en los jóvenes. En segundo lugar, o además, las crías manipuladas pueden ser frotadas suavemente con materiales del nido, para enmascarar el olor humano, y luego colocadas junto a los restantes miembros de la camada que no se hayan tocado.

En algunas especies tiene lugar la impronta, según la cual un animal joven reacciona frente al primer objeto grande y familiar que se mueva cerca de él, y se comporta como si fuera su progenitor. Es bien conocido que los pollos, los patitos y los corderos, e incluso los titís, criados artificialmente, pueden ser afectados por la impronta hacia seres humanos. Este fenómeno puede utilizarse cuando se pretende domesticar animales jóvenes. Sin embargo hay que tomar la precaución de ponerlos en contacto desde muy temprana edad con sus congéneres, pues de lo contrario pueden no reconocer a los de su propia especie y por lo tanto ser incapaces, de adultos, de aparearse o de encajar en el sistema social.

Un aspecto importante del manejo, y que a menudo se ignora, es el del traslado de animales, por ejemplo desde la estancia en la que viven hasta el laboratorio, o a donde quiera que vaya a tener lugar el procedimiento. En estas circunstancias los animales pueden verse expuestos a vibraciones y cambios en el nivel de ruido, por ejemplo en una carretilla ruidosa (ver SALES & WILSON, 1986). Si el traslado es entre edificios pueden verse sometidos asimismo a marcadas variaciones en luz y temperatura. Los animales deben ser transportados con las mínimas perturbaciones posibles y dárseles el tiempo necesario para que se adapten al nuevo emplazamiento antes de intentar cualquier experimento.

## SUJECCIÓN

La sujeción se puede definir como la inmovilización de un animal consciente, o de una parte de él, para mantenerlo en una posición fija durante un tiempo

determinado a fin de examinarlo o llevar a cabo una manipulación. A este fin se han diseñado equipos adecuados, por ejemplo la silla inmovilizadora para primates, que puede ser preferible a mantener al animal tumbado de espaldas. Antes de decidirse a utilizar cualquier método de sujeción, debería investigarse la posibilidad de utilizar como sustituto un entrenamiento de rutina.

La sujeción durante cualquier periodo de tiempo tendría que evitarse siempre que sea posible, aunque hay ocasiones en que es inevitable; por ejemplo si debe mantenerse al animal en una posición determinada para proceder a una dosificación o a la toma de muestras de sangre. Sin embargo, la inmovilización puede resultar mucho menos traumática cuando se combina con un entrenamiento adecuado.

El primer paso es que el animal se familiarice poco a poco con quien maneja el equipo de sujeción o, si no está contraindicado, a base de pedacitos de comida como premio. El paso siguiente es permitir que el animal se acostumbre al equipo. El animal puede ser entonces inducido a entrar espontáneamente y por breves periodos en el equipo de sujeción, y aumentar gradualmente el tiempo de sujeción. Al final del periodo de sujeción se deberá recompensar siempre al animal. La utilización de estas técnicas puede hacer para el animal menos traumática la inmovilización y, en consecuencia, representa un significativo refinamiento en los métodos de experimentación.

## **PRECAUCIONES CONTRA HERIDAS O ENFERMEDADES**

El personal que maneje a los animales debe tener en mente unas elementales precauciones a tomar para evitar heridas o enfermedades. Para un tratamiento en profundidad del tema véase SMITH (1987), y para información sobre determinadas especies, POOLE (1987).

Aunque los guantes pueden ofrecer cierta protección contra mordiscos y arañazos, no son del todo recomendables. Para ser a prueba de mordeduras un guante tiene que ser muy grueso e incluso estar reforzado con malla de alambre; lo cual significa que la manipulación se hace más torpe y que debe ejercerse una fuerza considerable para sujetar al animal. De hecho, un cuidador tiene más probabilidades de ser mordido si utiliza guantes porque el animal trata al guante como a un objeto inanimado que le impide su libertad de movimientos. Para la mayoría de animales resulta más agradable ser sujetados suavemente por la mano de una persona familiar que por un guante.

Los cuidadores deberían saber cómo prever el ataque de un animal, cómo evitarlo o cómo manejar a un animal que muerde. Normalmente, los animales capaces de infligir una herida sólo deberían ser manejados cuando haya dos personas presentes. Para evitar una infección es importante tomar medidas profilácticas, tales como la vacuna contra el tétanos o un tratamiento médico adecuado incluso en el caso de heridas superficiales.

Aunque la mayoría de animales de laboratorio es improbable que sean portadores de zoonosis, siempre hay excepciones, por ejemplo en el caso de animales de granja y especies cazadas en estado salvaje. Igualmente, algunas enfermedades pueden ser transmitidas a los animales por los cuidadores, por ejemplo sarampión y herpes, que en el caso de los titís pueden ser fatales. Deberían realizarse regulares chequeos de salud, tanto a los animales como al personal.

## **ADIESTRAMIENTO PARA LA COOPERACIÓN EN EXPERIMENTACIÓN**

### **DEFINICIÓN DE ADIESTRAMIENTO**

Adiestrar es moldear la actividad de un animal para que se comporte de la forma requerida por su entrenador. Este ayuda al animal a entender la tarea, cosa que usualmente implica entender la asociación entre el objetivo y el comportamiento adecuado para conseguirlo. El animal puede ser recompensado por responder de forma adecuada espontáneamente o debe ser enseñado a dar esta respuesta. A partir de ese sencillo inicio el entrenador debe ir incrementando progresivamente la complejidad de la situación hasta alcanzar el objetivo final. De esta forma el entrenador moldea el comportamiento del animal hasta lograr la tarea final. Este proceso es conocido como “aproximación sucesiva”.

En el adiestramiento debiera utilizarse únicamente la recompensa (refuerzo positivo) y nunca el castigo (refuerzo negativo).

El refuerzo negativo no es utilizado por los buenos entrenadores (pero véase el apartado de Disciplina y Control en la página 25), a no ser que sea realmente parte esencial en un experimento legalmente sancionado. El refuerzo positivo puede aplicarse en forma de comida o, en algunas especies, con una simple alabanza. Tener sentido común y práctico, paciencia, conocimiento del comportamiento natural de la especie y una relación con el animal son atributos esenciales en un entrenador, y un proceso de adiestramiento debería ser enfocado como una sociedad. Es asimismo esencial comprender que no es posible enseñar a un animal a hacer algo fuera de su repertorio de conducta. El adiestramiento más efectivo es aquél que saca provecho del repertorio natural de comportamiento del animal; por ejemplo, es sencillo enseñar a una rata a introducirse en un túnel o a un gato a saltar hasta un estante porque ambas son tendencias naturales en sus especies respectivas. Puede encontrarse una descripción útil de las técnicas de adiestramiento en PRYOR (1985).

### **TIPOS DE APRENDIZAJE UTILIZADOS EN EL ADIESTRAMIENTO**

La **habitación** es la forma más sencilla de aprendizaje y se da en todo el mundo animal. Puede ser definida como el debilitamiento de una respuesta como

resultado de un estímulo continuado y sin reforzamiento. Esta clase de aprendizaje tiene importancia al familiarizar a un animal con determinados aspectos de su entorno frente a los cuales no es necesaria una reacción. Resulta valioso en el laboratorio, en muchos casos en que es importante para el animal permanecer indiferente frente a aspectos de su entorno inicialmente no familiares (ver Sujección, página 22). La habituación se ha demostrado asimismo valiosa, por ejemplo, al entrenar perros a ignorar estímulos que les distraigan.

El **aprendizaje por asociación** implica el uso de un reforzador y es importante en muchos procesos de adiestramiento. En condicionamientos clásicos, o de Pavlov, el reforzador es asociado con un acontecimiento que normalmente le precede. Un animal puede ser adiestrado para llevar a cabo un comportamiento rutinario ofreciéndole a continuación una recompensa alimenticia, por ejemplo condicionándole para que se siente en una silla de inmovilización o para que ofrezca una parte de su cuerpo para ser inyectado.

El **aprendizaje por prueba y error**, en el que es el propio animal quien experimenta y quien finalmente llega a la solución del problema, puede jugar un papel en el entrenamiento. El entrenador puede permitir al animal desarrollar una serie de comportamientos y premiarlo cuando ejecute la acción adecuada; de esta forma se puede configurar gradualmente una rutina hasta alcanzar el objetivo final. Cuando el animal esté en espacios amplios puede que no sea posible premiar al animal lo bastante rápido como para que éste asocie la conducta deseada con la recompensa. En este caso se necesitará un “puente”. Por ejemplo un animal puede ser condicionado a esperar comida después de que suene un silbato; cuando el animal ejecuta la rutina correcta durante las sesiones de entrenamiento se hace sonar el silbato y ello hace de puente entre la respuesta correcta y el premio.

A veces los animales pueden aprender observando a otros. Esto puede ser utilizado por el entrenador permitiendo a otros animales hacer de espectadores durante las sesiones de entrenamiento. De este modo el animal espectador puede ser entrenado más rápidamente a causa de estar familiarizado con la situación.

Los tipos de entrenamiento descritos pueden resultar valiosos en una serie de procedimientos experimentales de laboratorio, tales como acudir a la mano para recibir una recompensa, dejarse tomar muestras de sangre y poner inyecciones, ser pesado, identificado, examinado y muchos otros.

## **DISCIPLINA Y CONTROL**

La única situación en la que puede recurrirse al refuerzo negativo es la de disciplinar a un animal. Esta situación puede surgir cuando un determinado comportamiento es indeseado debido a que el animal puede poner en peligro, a sí mismo, a otro animal o al entrenador. La disciplina, sin embargo, no debiera

implicar castigo físico. Retirar el afecto o, en el peor de los casos, un grito o una amenaza serán suficientes. Castigar físicamente a un animal no sólo es inhumano sino que puede volverlo agresivo o huidizo, y al destruir su confianza en el cuidador puede hacer difícil o incluso imposible el adiestramiento.

La disciplina es particularmente importante en el caso de animales más grandes, tales como perros y primates. El entrenador debe tener el control en todo momento sin ser cruel; lo cual prevendrá la agresión y las heridas. Si el animal se muestra sencillamente poco cooperativo durante una sesión de entrenamiento, lo mejor es dar por terminada la sesión.

## **COHERENCIA**

Si un adiestramiento ha de tener éxito, el entrenador debe relacionarse con el animal de un modo coherente. Hay que darle siempre las mismas órdenes, y es preciso normalizar los métodos. Si hay más de un entrenador debe haber una coherencia entre ellos para evitar confundir al animal que está siendo adiestrado.

## **LIMITACIONES EN LA CAPACIDAD DE APRENDER DE UN ANIMAL**

Hay que tener en cuenta que no todos los animales pueden ser enseñados a hacer las mismas cosas porque varían las aptitudes entre diferentes especies e incluso entre individuos de la misma especie.

Algunas características básicas innatas de las especies, tales como los lazos sociales en los mamíferos, pueden afectar asimismo al aprendizaje, toda vez que limitan la adaptabilidad. Por ejemplo, es difícil enseñar a monos monógamos a cooperar con congéneres desconocidos de su mismo sexo. La respuesta de los animales al entrenamiento dependerá del grado en que los individuos de esa especie cooperen habitualmente entre sí en su hábitat natural.

La eficacia de la comida como refuerzo positivo quedará condicionada por la dieta natural y por si les gusta o no, y ello determinará la clase de recompensa que debe ser ofrecida. Por ejemplo, carnívoros y omnívoros pueden responder más positivamente a incentivos alimenticios que los herbívoros. El nivel de relación con el entrenador difiere de unas especies a otras; algunas, como ratas, perros, cerdos y monos son fáciles de adiestrar, en tanto que otras, como los ratones, conejos y cobayas, son más difíciles. Las diferencias entre razas de una misma especie son indudablemente significativas, como es el caso del perro doméstico, en el que las distintas razas han sido seleccionadas a partir de atributos particulares de comportamiento. Las diferencias de aptitud entre los individuos de una raza o de una especie también pueden ser importantes. La receptividad del animal al adiestramiento variará asimismo con su estado psicológico y su

motivación. Por ejemplo, altos niveles de motivación sexual relacionados con el ciclo reproductivo influirán con toda seguridad en la concentración y en la respuesta hacia cualquier miembro del sexo opuesto que pueda estar presente.

La edad del individuo puede influir en el entrenamiento. Por ejemplo, puede haber periodos más sensibles al aprendizaje y los animales de mayor edad resultan muchas veces difíciles de enseñar. El problema de inhibir una conducta, de inducir al animal a abandonar un hábito no deseado, puede resultar asimismo más complicado a medida que el animal se haga mayor.

## MANEJO Y ADIESTRAMIENTO DE DIFERENTES TIPOS DE ANIMALES

Hay algunos aspectos de los procedimientos de familiarización, manejo y adiestramiento que difieren de unas especies a otras. A continuación se ofrecen breves descripciones de las técnicas especiales que serán necesarias en el manejo y entrenamiento de diferentes clases de animales. Con todas las especies es esencial el consejo y la ayuda de personas con experiencia en el manejo y entrenamiento de esas especies.

Información más concreta acerca del manejo de algunas especies en particular puede ser encontrada en el “Manual UFAW para el cuidado y manejo de animales de laboratorio” (POOLE, 1987).

### MAMÍFEROS

Los **roedores** pueden familiarizarse con los cuidadores ofreciéndoles el dorso de la mano y permitiéndoles que lo investiguen. Las ratas, ratones y jerbillos pueden asirse por la base de la cola al tiempo que se sujeta rápidamente el cuerpo con la otra mano; ello evita que puedan trepar por su propia cola y morder al cuidador. Los roedores no deberían ser agarrados nunca por el último tercio de la cola pues podrían provocar ellos mismos su ruptura (como estrategia antipredatoria). A especies como las de ratones espinosos (*Acomys*), que pueden desprender entera la piel de la cola, o a aquéllas sin cola, como los hámsters, se les puede asir por la piel del cuello y mantenerlos de espaldas a lo largo de la palma de la mano y la muñeca. Los cobayas deben ser sujetados por los hombros al tiempo que con la otra mano se sostienen las patas traseras. Los roedores salvajes deben ser manejados con extrema precaución sobre todo si acaban de llegar al laboratorio, debido al peligro de zoonosis. Los roedores pueden ser habituados a los aparatos experimentales de manera que ofrezcan una mínima respuesta a los mismos. Se desconoce, sin embargo, hasta qué punto los mamíferos más pequeños pueden acostumbrarse al ruido. Debido a que la mayor parte de su campo auditivo pertenece a la banda de los ultrasonidos el

cuidador no lo tiene presente como posible factor de perturbación. Diferentes razas de ratas y ratones varían considerablemente sus reacciones frente a las personas, pero la mayoría se habituará con rapidez a procedimientos sencillos. Las ratas pueden ser enseñadas rápidamente a cooperar en experimentos y son la especie tradicionalmente utilizada por los psicólogos comparados en experimentos sobre el aprendizaje. Al igual que las ratas, los cobayas pueden ser enseñados a accionar palancas para obtener un premio.

Los **conejos** aceptarán rápidamente cuidadores conocidos. Pueden ser sujetados agarrándolos simultáneamente por las orejas y la piel del cuello con una mano y aguantando el resto del cuerpo con el otro brazo. Hay que tener cuidado de que el animal no se revuelva demasiado ya que si es grande o pesado puede fácilmente romperse el espinazo. Los conejos grandes se pueden levantar pasándoles una mano por el esternón y sujetar con la otra las patas traseras hasta que los cuartos traseros queden aprisionados entre el codo y el cuerpo del cuidador. Los conejos raras veces muerden pero pueden propinar una buena patada y provocar alguna lesión con las uñas de las patas traseras. Debido a que los conejos se vuelven dóciles y toleran los procedimientos rutinarios fácilmente, normalmente no se les entrena para tareas específicas.

Los **carnívoros** más usualmente utilizados en el laboratorio son los perros, gatos y hurones, a los que se pueden aplicar los principios generales, ya esbozados. Los hurones, pese a su reputación, son por lo general amistosos y fáciles de manejar. Una vez se han familiarizado se pueden sujetar por los hombros y sosteniendo las patas traseras. No son aconsejables los movimientos repentinos (particularmente retirar las manos con brusquedad), pues el hurón es más rápido que su cuidador y suele atacar objetos que se alejan rápidamente. Aunque la mayoría de hurones son notoriamente dóciles, muy ocasionalmente alguno puede morder sin previo aviso y aferrarse a la presa. La mejor manera de liberarse es ejercer una suave presión en los ojos con el índice y el pulgar, pellizcarle en la almohadilla plantar de una pata o meterle la cabeza bajo el grifo del agua fría (para más detalles, ver ANDREWS & ILLMAN, 1987 y PORTER & BROWN, 1985). Incluso sin familiarización, la mayoría de hurones pueden ser cogidos por el pescuezo, momento en el que se quedan totalmente inmóviles y aparentemente desconocedores de lo que les está ocurriendo. Ello permite un examen completo del animal. Este comportamiento es perfectamente natural y se conoce como "ataxia de transporte" porque está asociado con la forma en que la mayoría de las hembras de mamífero transportan sus crías; es curioso que, en los hurones, ese reflejo persista en la vida adulta.

Perros y gatos pueden ser fácil y rápidamente familiarizados en el laboratorio siempre que haya existido suficiente contacto humano desde muy temprana edad. A lo largo de toda su vida se benefician del contacto humano y hasta donde ello sea posible deben ser tratados como animales de compañía. Debiera jugarse con ellos de jóvenes y, de adultos, acariciarlos. El tiempo del personal puede

estar dedicado en su mayor parte a mantenimiento rutinario, pero diariamente deberían reservarse periodos a la misma hora específicamente dedicados a socializar con los animales. Los carnívoros, con pocas excepciones, se habituarán a equipos y circunstancias no familiares. El perro es uno de los animales más fáciles de domesticar, de manera que no hay excusas para adiestrarlos a que cooperen con cuidadores e investigadores. Existe una amplia bibliografía acerca del adiestramiento de perros, y en el caso de técnicas particulares debería consultarse (UFAW, 1990). En la mayoría de casos, sin embargo, una buena relación entre perro y cuidador permitirá al personal del laboratorio, con sólo aplicar los principios generales expuestos en esta guía, adiestrar rápidamente a los perros.

Los **animales de granja**, tales como ganado vacuno, caballos, cerdos y corderos, hace miles de años que han sido seleccionados para prosperar en domesticidad, y ello, junto a la forma en que en general el granjero se implica en la cría ha dado como resultado unos animales que aceptan voluntariamente al hombre como parte de su entorno natural. Resultan grandes en comparación con la mayoría de las especies de laboratorio y eso, en sentido físico, debe ser considerado seriamente y tratarlos como individuos. Existen abundantes conocimientos en la comunidad campesina acerca de la manera de cuidar y manejar a estos animales. Los cerdos en particular responden bien a la familiarización, y a las buenas técnicas de manejo; el tiempo que se dedique a esos animales se verá recompensado con creces al facilitarse la experimentación y disminuir el estrés tanto en los cerdos como en los cuidadores. Su nivel de inteligencia y de relación con los seres humanos se considera generalmente similar al de los perros.

La mayoría de los animales de granja pueden adiestrarse fácilmente. El ganado vacuno es utilizado para el tiro y las vacas son enseñadas a entrar en la sala de ordeño y permitir que se les aplique una ordeñadora a las ubres. Tanto las cabras como las ovejas pueden ser enseñadas fácilmente a cooperar en la experimentación. Los caballos son un caso especial y son utilizados como animales de tiro para la monta y para competición; existe una considerable bibliografía sobre técnicas para entrenar a esos animales. Los cerdos son muy inteligentes y pueden ser fácilmente entrenados para cooperar con el experimentador.

Los **primates no humanos** se encuentran entre los mamíferos más inteligentes y es mucho mejor adiestrarlos que inmovilizarlos mediante el uso de la fuerza o tranquilizantes. Se puede establecer rápidamente una buena relación dándoles de comer en la mano y luego espulgándolos o acariciándolos suavemente. Cuando haya que entrar en la jaula es de la mayor importancia, con simios del Viejo Mundo y póngidos, establecer una confianza total entre el animal y el cuidador. El mono debe saber que el hombre es el jefe y no hay que ponerle nunca en una situación en la que se sienta de tal forma

amenazado que se vea obligado a desafiar al cuidador; por ejemplo tocar o llevarse a una hembra del harén cuando el macho está presente. Los primates grandes son generalmente más fáciles de adiestrar, pero incluso los titís y los monos ardilla acudirán a la mano y aceptarán voluntariamente ser sujetos si se les asegura una recompensa.

No debe olvidarse nunca que los monos ocupan un entorno vertical y que tienden a trepar hacia el techo o a lo alto de un armario. Si el animal debe ser trasladado por su propio pie, por ejemplo desde una jaula hasta el laboratorio, un sistema combinado de pértiga y collar puede resultar muy valioso para prevenir excursiones verticales. De esta forma el animal está sujeto por el collar, pero la rigidez de la pértiga mantiene la distancia con el cuidador (ver ANDERSON & HOUGHTON, 1983).

Los primates, particularmente los macacos más grandes, los monos verdes o totas, los papiones y los póngidos, que son de uso común en los laboratorios, son altamente inteligentes y pueden ser fácilmente adiestrados por personal que les es familiar para cooperar en procedimientos tales como ofrecer un brazo para tomar una muestra de sangre, toma de frotis vaginales, control de peso, entrar en aparatos de sujeción, ser medicado o someterse a reconocimiento veterinario. Hay que asegurarse de que el animal no puede escaparse de la habitación o buscar refugio en lo alto de la misma. Los primates más grandes son potencialmente peligrosos y dos personas ya conocidas deberían estar presentes en las sesiones de adiestramiento y manejo.

En algunos laboratorios es costumbre que el personal utilice mascarillas; ello no es aconsejable durante las sesiones de adiestramiento porque el animal puede tener dificultades para interpretar las intenciones e instrucciones del entrenador, cuyas facciones quedan escondidas. Cuando las máscaras deban ser utilizadas en procedimientos posteriores de la investigación, pueden serles mostradas en las últimas fases del programa de adiestramiento. Otra solución es que el personal utilice mascarillas faciales con filtro de aire, que permiten ver las facciones del entrenador.

Las especies de primates más pequeñas tienden a mostrar un temperamento más inconstante y voluble, y periodos de atención más cortos. Sin embargo, puede enseñarse a los titís a ejecutar una amplia gama de actividades, incluyendo discriminación, comparación de muestras, accionar palancas, alcanzar objetos mediante guía visual, y tolerancia de procedimientos rutinarios.

Los primates de laboratorio pueden ser adiestrados incluso de adultos, pero siempre que sea posible es preferible iniciar el adiestramiento con animales jóvenes.

## AVES

Las aves de laboratorio más comunes son palomas, aves de corral, patos, codornices y pájaros de jaula. Los métodos para familiarizar a una ave con el

cuidador no difieren mucho de los usados con los mamíferos, es decir recurrir a la comida como premio para facilitar la aproximación. Sin embargo es importante tener en cuenta el hecho de que los sentidos principales de los pájaros son la vista y el oído, y que la mayoría de los pájaros emprenden el vuelo cuando se asustan. Las técnicas de sujeción e inmovilización dependerán del tamaño del pájaro y de la eficacia de sus alas y pico como armas. Una ave confiada y familiarizada con su cuidador, sin embargo, se dejará sujetar y será más fácil de manejar que una nerviosa.

Los pájaros pequeños pueden sujetarse en la mano con las alas suavemente pegadas a los costados y la cabeza y el cuello sobresaliendo por entre el índice y el pulgar, bien entre el índice y el corazón. Las aves más grandes pueden ser sujetadas por el cuello con la mano izquierda mientras se pasa el brazo derecho por encima del cuerpo y se sitúa la mano debajo del esternón; esta posición restringe eficazmente el movimiento de las alas. Cuando sea posible es preferible manejar a las aves en la penumbra, pues eso surte efectos calmantes.

La mayoría de aves pueden ser acostumbradas a cooperar en la experimentación. Algunas especies, como las aves de corral y palomas, también pueden ser entrenadas a accionar palancas o a ejecutar determinadas secuencias de actos. Su comportamiento natural puede utilizarse para capacitarlas en participar en procedimientos rutinarios de laboratorio. Por ejemplo, muchas especies pueden ser pesadas con sólo colocar en la jaula una percha colgada de una balanza electrónica o de muelle y esperar a que el pájaro se pose en ella.

## **REPTILES**

Los reptiles más comúnmente utilizados en el laboratorio son tortugas de tierra o acuáticas, lagartos y serpientes. La presente guía cubre estos grupos, pero se refiere únicamente a las especies no venenosas. Quien se proponga manejar serpientes o lagartos venenosos debería llevar a cabo un aprendizaje con personas especializadas en tales especies y familiarizarse con la bibliografía sobre el tema (COBORN & LAWRENCE, 1987a, 1987b; PHELPS, 1981).

Con los reptiles la familiarización no da como resultado una relación afectiva con el cuidador, aunque el animal puede reconocer a determinados cuidadores y no mostrar temor. Algunos pueden ser enseñados a comer en la mano y la mayoría pueden ser habituados a ser sujetados familiarizándolos con la experimentación. Sin embargo, no son factibles formas de adiestramiento más elaboradas. Los actos del cuidador deben ser rápidos y seguros. La mayoría de lagartos y serpientes pueden ser sujetados con firmeza por detrás de la cabeza con el cuerpo descansando en la palma de la mano, o en especies de más de 30 cm, sujetándolo bajo el brazo. Las especies más grandes requerirán dos personas, una en cada extremo. Las tortugas de mar o de tierra pueden ser

sujetadas por el caparazón. Algunos individuos de reptil pueden ser agresivos e intentar morder, pero eso es algo que no puede serles erradicado, de manera que es preferible trabajar sólo con individuos dóciles por naturaleza. Las especies grandes pueden infligir mordeduras muy graves. Una vez sujetos, la mayoría de reptiles dejarán de resistirse y se relajarán, y en ese momento pueden ser cogidos con suavidad. Para más detalles sobre las técnicas de sujeción de reptiles en laboratorio, ver COBORN & LAWRENCE (1987a, 1987b). Al ser poiquiloterms, los reptiles pueden ser más fáciles de manejar si se les baja la temperatura varios grados.

## **ANFIBIOS**

Como en el caso de los reptiles no es posible establecer un lazo afectivo entre animal y cuidador, aunque muchas de las especies mayores de sapos pueden ser alimentadas en la mano. Las especies con piel viscosa se sujetan mejor con un trapo húmedo. A las especies de climas templados les disgusta el calor y antes de cogerlas hay que enfriar la mano o el trapo poniéndolos bajo el grifo de agua fría. Hay que tomar precauciones para impedir que los anuros salten. La mejor forma de sujetar a la mayoría de los anfibios es con una mano justo detrás de la cabeza y con la otra agarrar o inmovilizar los cuartos traseros; para más detalles sobre el manejo de anfibios ver VERHOEFF-DE FREMERY et al. (1987) y VERHOEFF-DE FREMERY & GRIFFIN (1987). Aunque los anfibios pueden habituarse a ser manejados familiarizándolos con los procedimientos, como en el caso de los reptiles, no son practicables formas de entrenamiento más elaboradas.

## **INSTRUCCIÓN DE LOS CUIDADORES**

El personal debe familiarizarse primero con las técnicas de manejo y únicamente debe proceder al adiestramiento de animales si éste ha tenido éxito. El tutor tiene que ser un cuidador o entrenador experimentado y utilizar demostraciones prácticas para enseñar el uso de las técnicas. Debido a la naturaleza personal de la relación entre animal y cuidador o entrenador, es importante tener en cuenta que algunas personas no tienen facilidad en relacionarse con animales. Por ejemplo, pueden ser asustadizos, no tener paciencia o ser algo despiadados, de forma que incluso con las mejores intenciones el aprendizaje de esas personas puede no tener éxito.

Por muy bueno o experimentado que sea el entrenador, la cooperación del animal depende siempre de la percepción que éste tenga del mismo. Un animal muestra a veces una aversión aparentemente irracional hacia una persona y viceversa. Esto se puede solucionar haciendo que el entrenador sea el único

suministrador de comida para el animal, cosa que establecerá una relación de confianza mutua. De lo contrario, el entrenamiento debe ser asignado a otra persona.

Todos los animales, incluidos los seres humanos, pueden comportarse de forma impredecible. Es por lo tanto importante que el personal sea entrenado para solucionar posibles emergencias. En cualquier caso, durante el manejo o adiestramiento de los animales más grandes debe estar presente un miembro experimentado del personal.

## CONCLUSIONES

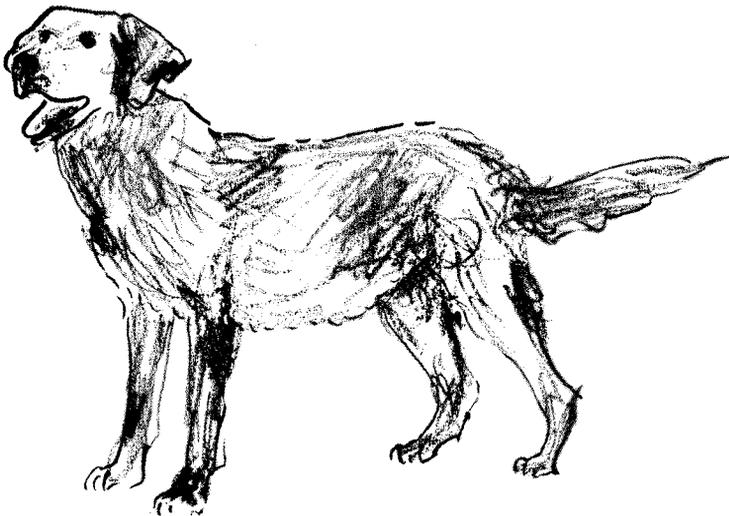
El manejo y la experimentación con animales conscientes son procedimientos estresantes porque a los animales les disgusta cualquier limitación de su libertad de movimientos. El estrés provocado por un manejo inadecuado puede tener muchas consecuencias desgraciadas, por ejemplo en vertebrados que están criando, infanticidios, rechazo de los huevos o de las crías; asimismo, ello afectará a unos individuos más que a otros, con lo cual se incrementará la variabilidad de la muestra.

La variabilidad entre animales, en términos de respuesta al estrés, representa una variable no deseada y no cuantificable en el diseño experimental. Cuando se adoptan medidas para controlar esa variabilidad se obtienen resultados estadísticamente significativos haciendo uso de menor número de animales.

Un manejo adecuado y, cuando ello sea posible, técnicas de adiestramiento adecuadas, reducen el estrés y son ayudas valiosas en el cuidado de animales o en los procedimientos experimentales. No sólo facilitan el trabajo del cuidador y del experimentador sino que son beneficiosas para el animal y representan una importante mejora en el método científico.

El adiestramiento de animales de laboratorio es un área descuidada de conocimiento y experiencia. El *Biological Council* [Junta biológica] desearía alentar su desarrollo, asistir al desarrollo y expansión de técnicas y, posiblemente, al establecimiento de cursos de aprendizaje. En este sentido recomienda a todos aquellos que se preocupan por o utilizan animales en experimentos que lean estas directrices y las apliquen.

## 2. ALOJAMIENTO Y CUIDADOS



## 2. ALOJAMIENTO Y CUIDADOS

Este apartado pretende ayudar a los responsables del cuidado de animales de laboratorio y al diseño y construcción de dependencias para alojarlos.

En trabajos científicos en que se utilizan animales vivos probablemente se obtendrán los resultados más fiables haciendo uso de animales saludables y bien adaptados a su alojamiento, y en pruebas o comparaciones cuantitativas se incrementa la precisión si esos animales son uniformes. Este capítulo está basado en las prácticas y los conocimientos actuales y puesto que éstos avanzan, puede necesitar ser puesto al día.

El Convenio Europeo (COUNCIL OF EUROPE, 1986) afirma que: “A todo animal utilizado, o que vaya a serlo, en un experimento, le será facilitado alojamiento, un entorno, un mínimo de libertad de movimiento, alimento, agua y cuidados adecuados para su salud y bienestar. Cualquier restricción en el grado en que un animal puede satisfacer sus necesidades fisiológicas y etológicas debe ser limitada cuanto sea posible. En la aplicación de esta provisión, debe prestarse atención a las pautas para alojamiento y cuidado de animales dispuestas en el Apéndice A de este Convenio”.

Estos principios han sido tenidos en mente durante la preparación de la presente guía.

Cuando las instalaciones para animales no cumplan los estándares aquí recomendados es de desear que se introducirán sin demora las necesarias modificaciones para el bienestar de los animales. Las instalaciones nuevas deberán cumplir los estándares hasta donde sea posible, pero nada hay en esta guía que implique que una absoluta uniformidad sea en sí misma deseable, ni que deban introducirse cambios para alcanzar la uniformidad por el gusto de hacerlo. Como parte de sus investigaciones, y antes de efectuar la oportuna recomendación al Secretario de Estado sobre solicitudes de licencias y certificados, los inspectores del *Home Office* [Ministerio del Interior] deberían considerar si las instalaciones, o cualquier proyecto de obras, son aceptables. Cuando se pretenda introducir alteraciones sustanciales en las instalaciones es aconsejable consultar con el inspector antes de iniciarlas.

Los responsables de animales de laboratorio debieran poseer un cuidadoso entrenamiento en los cuidados y estar familiarizados con las necesidades básicas de sus animales tanto en condiciones normales como experimentales. Los usuarios deben ser conscientes de las responsabilidades legales y morales del uso de animales en la experimentación comprender su importancia y ser competentes en el manejo y la sujeción de animales. Asimismo deben ser competentes en los procedimientos que estén llevando a cabo (SMITH, 1984).

Bajo el Decreto *Health and Safety at Work etc, 1974* [Salud y seguridad en el trabajo], a la persona al cargo de una unidad se le requiere que asegure que se trata de un lugar seguro y saludable para trabajar. El personal debiera conocer las medidas a tomar en caso de accidente, fuego u otras emergencias.

El asma ocupacional provocado por el contacto con animales de laboratorio es una enfermedad reconocida (INDUSTRIAL INJURIES ADVISORY COUNCIL, 1986). Para más información, ver SEAMER & WOOD (1981), SMITH (1987), ADVISORY COMMITTEE ON DANGEROUS PATHOGENS (1984), INSTITUTE OF BIOLOGY (1985) y ASSOCIATION OF THE BRITISH PHARMACEUTICAL INDUSTRY (ABPI) (1987).

## **ALOJAMIENTO Y ENTORNO**

### **EL ANIMALARIO**

El animalario debe ser diseñado, emplazado y construido para proporcionar un entorno adecuado, incluyendo cualquier requisito para el ejercicio físico o el contacto social de las especies que hayan de ser alojadas, y debe incorporar el equipamiento adecuado a las actividades que tengan lugar en él. Al elegir el emplazamiento del animalario hay que tomar en consideración las actividades en los edificios adyacentes y los efectos que las mismas puedan ejercer en el bienestar de los animales. Cuando las dependencias formen parte de un complejo más amplio deben diseñarse para que sean autosuficientes o impidan el acceso de personas no autorizadas. Los animales silvestres, abandonados o caseros, no deben tener acceso a ningún área del animalario, ni tan siquiera al almacén o a la zona de personal. Hay que tener especial cuidado allí donde cañerías y demás servicios atraviesan paredes y suelos.

### **Seguridad**

El animalario y sus dependencias deben ser diseñados para evitar que se escapen los animales. Se ha demostrado asimismo necesario proteger las dependencias de los animales contra intrusiones ilegales. A la hora de diseñar dependencias

nuevas o modificar las ya existentes sería conveniente pedir consejo a las autoridades locales o a expertos en la materia.

## Las habitaciones de los animales

En lo que a esta guía se refiere, las habitaciones de los animales son aquellas en las que habitualmente se albergan animales de laboratorio para criarlos, como stock o para someterlos a procedimientos no quirúrgicos. Como norma, las intervenciones quirúrgicas de importancia o la eutanasia no deben practicarse en las habitaciones donde se alojan habitualmente los animales, o donde otros animales conscientes están siendo sometidos a experimentación. Las operaciones de las que los animales vayan a recuperarse deben realizarse normalmente en condiciones asépticas en una habitación acondicionada para operar. Las intervenciones leves pueden ser practicadas en un área reservada a tal efecto en las habitaciones de los animales o en una estancia separada y preparada para ello. Los animales inoculados con agentes infecciosos y transmisibles a otros animales de las dependencias deberían mantenerse en un área reservada.

Las habitaciones de animales deben ser construidas con materiales impermeables, con superficies fáciles de limpiar, resistentes a los productos químicos utilizados para limpiar o fumigar las habitaciones.

Hay que considerar la utilización de materiales no susceptibles de romperse o agrietarse. Los suelos no deben ser resbaladizos, ya que en seco o en mojado. Deben sellarse las juntas entre el marco de la puerta y la pared. Y para facilitar su limpieza deben redondearse las juntas entre suelo y paredes, paredes y techo o entre paredes.

Las habitaciones de animales deben quedar protegidas contra plagas tales como roedores silvestres o insectos; hay que tener especial cuidado en los puntos en que existan cañerías (ver guía RENTOKIL: Cómo evitar las plagas en instalaciones profesionales). Las instalaciones deben construirse de forma que queden integrados en la estructura del edificio, encerradas en una caja o separadas de la pared para facilitar su limpieza. Cuando haya que perforar la estructura del edificio deben sellarse los agujeros. Al planificar debe tenerse en cuenta que el mantenimiento puede molestar a los animales y perturbar los experimentos. Las instalaciones deben ser accesibles desde el exterior y con elementos que puedan ser extraídos por el personal para su mantenimiento o reparación.

Los animales de granja estabulados requieren en general suelos y paredes más gruesos, y sin salientes que puedan poner en peligro a ellos o al personal. A los animales de granja que deban permanecer en un animalario debería asignárseles como mínimo el espacio estipulado por los Códigos del MAFF (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación). Para algunos experimentos los estándares de alojamiento y entorno requeridos pueden ser mucho más

elevados que si los animales permanecieran en una granja. Habría que proporcionar áreas de ejercicio para los animales de granja más grandes, aunque en determinados casos tales áreas pueden resultar impracticables por motivos experimentales, del entorno, del control sanitario o de seguridad.

Los niveles máximos de población quedan limitados fundamentalmente por la eficacia del sistema de ventilación. La densidad de población en cada habitación para cada una de las especies que puedan ser alojadas allí tendrá que ser calculada y respetada (ver Ventilación en la página 44). Si una habitación huele a amoníaco será probablemente debido a que contiene demasiados animales, a que hay poca ventilación, a que la habitación no se limpia adecuadamente o a una combinación de todos estos factores; la causa debería ser investigada.

Las especies incompatibles, por ejemplo los predadores y sus presas, o los animales que necesitan diferentes condiciones ambientales o sanitarias, no deben ser alojados en la misma habitación ni, en determinados casos, al alcance del olfato o del oído.

En las habitaciones de animales hay que tomar precauciones para minimizar los riesgos que implica su manejo para el personal; por ejemplo mordeduras y arañazos, alergias o infecciones (UFAW, 1987).

Deberían suministrarse alojamientos separados para animales enfermos o heridos.

Los animales de cría suelen por lo general estar separados de aquellos bajo un proceso experimental. De acuerdo con la calidad microbiológica y genética deseadas, se requerirán diferentes niveles de separación y barreras físicas entre áreas de cría y otras. Las instalaciones de cría y suministro pueden necesitar áreas en las que preparar a los animales para su envío.

Habrà que llevar a cabo los arreglos necesarios para el acomodo de los animales que lleguen. Los animales que ingresan en un animalario no deben poner en peligro a los que ya están allí. Habrà que prever un espacio para aislamiento y aclimatación cuando sea necesario.

Es necesario disponer de habitaciones adecuadas para los experimentos generales o especializados, que pueden variar desde albergar las instalaciones mínimas hasta los aislantes de presión negativa o las cabinas de flujo laminar para estudios con agentes infecciosos.

## Áreas de servicio e instalaciones de apoyo

Como norma, el diseño y construcción de áreas de servicio y circulación deben poseer un estándar similar al de los de las áreas de experimentación. El edificio se planificará para prevenir el contagio entre material sucio y limpio. Los corredores deben ser lo bastante amplios como para permitir el desplazamiento del personal y los equipos. Las áreas de servicio están sometidas a un tratamiento

rudo y el revestimiento de las paredes debería ser resistente a los golpes, con protectores en paredes y esquinas. Superficies y rincones deben ser fáciles de limpiar. En las áreas de lavado es necesario instalar un drenaje adecuado y la ventilación suficiente para eliminar el exceso de calor o de humedad.

Tiene que haber suficiente espacio de almacenamiento; no deberían utilizarse los pasillos como almacén. Hay que disponer de espacios diferenciados para comida, camas, cajas, material de limpieza y demás artículos. Los almacenes para comida y camas deben ser secos y limpios; los almacenes de comida deben ser a prueba de animales pequeños e insectos, frescos y umbríos. Los alimentos perecederos se almacenarán en estancias frescas, frigoríficos o congeladores.

Debe proveerse un área libre de parásitos para la recogida de basura antes de su eliminación. Hay que tomar medidas especiales para el manejo de cadáveres, de material radiactivo, o de otros materiales peligrosos.

Todos los establecimientos deberían tener acceso a instalaciones separadas donde llevar a cabo diagnósticos, necropsias y la recogida de muestras para su análisis. Esas instalaciones no deben estar necesariamente en el animalario.

Donde haya que llevar a cabo operaciones quirúrgicas debería disponerse de las instalaciones adecuadas, incluyendo áreas separadas para la preparación de animales, equipo y personal, y tendría que haber un área para la recuperación postoperatoria.

## Instalaciones para el personal

Las instalaciones para el personal deben incluir oficinas para el personal y el archivo, y habitaciones adecuadas en las que cambiarse, áreas de descontaminación, instalaciones para primeros auxilios y lavabos, y espacio para guardar la indumentaria de protección o para trabajar en el exterior. Quedará absolutamente prohibido fumar, beber o comer salvo en las áreas específicamente designadas para ello.

El personal que cuida a los animales puede tener que estar presente en horas en que los servicios habituales de alimentación no sean posibles; así que será necesario proveer instalaciones para la preparación de comidas.

## Adiestramiento del personal

La persona a cuyo nombre está extendido el certificado como responsable del bienestar general de los animales del establecimiento, debe asegurarse de que el resto del personal reciba el adecuado adiestramiento. El grado de formación dependerá de las actividades que vaya a desarrollar. Solamente el personal capacitado debería ser responsable del cuidado y manejo de los animales. En todo momento debería estar disponible personal adecuadamente preparado para

el cuidado de los animales, incluidos los fines de semana, las fiestas oficiales y cuando el personal habitual esté ausente, por ejemplo debido a una enfermedad.

Existe información disponible sobre adiestramiento y cursos sobre ciencia y tecnología de animales de laboratorio en el *Business and Technician Education Council*, el *Institute of Animal Technology*, el *Royal College of Veterinary Surgeons* y el *Royal Veterinary College* de la Universidad de Londres. Algunas compañías farmacéuticas organizan cursos para su propio personal (ver también SMITH, 1984).

## Cuidados veterinarios

Bajo la Ley de 1986, para registrarse como instalación autorizada se requiere el nombramiento de un veterinario (o de cualquier otra persona cualificada) para aconsejar acerca de la salud y el cuidado de los animales. Es importante que el veterinario posea experiencia acerca de las necesidades de los animales de laboratorio.

## EL ENTORNO

La ventilación y la humedad son importantes en el bienestar de los animales; y habría que controlar la temperatura para asegurarse de que los animales no sufren estrés debido al frío o al calor. Los resultados experimentales pueden quedar influidos por las condiciones ambientales (CLOUGH, 1984) con lo que los animales deberían ser mantenidos en unas condiciones que favorezcan la coherencia de su respuesta a los procedimientos científicos. Es deseable un control estricto de la temperatura ambiente en experimentos en los que la reacción del animal, por ejemplo a una sustancia tóxica, dependa en gran manera de la temperatura. Las variaciones no son tan críticas en estudios en los que los resultados son más cualitativos que cuantitativos, y en los que son utilizados grupos de control adecuados. Para la cría, una fluctuación diaria de la temperatura puede resultar verdaderamente beneficiosa.

## Temperatura

Las temperaturas de las habitaciones donde están los animales deberían ser controladas y comprobadas de continuo, al menos una vez al día. La tabla 1 ofrece los límites recomendados entre los cuales deberían ser mantenidas las temperaturas de las habitaciones mientras la temperatura exterior se encuentre entre  $-2^{\circ}\text{C}$  y  $+27^{\circ}\text{C}$  (CHARTERED INSTITUTION OF BUILDING SERVICES ENGINEERS, CIBSE, 1986-1987).

Tabla 1. Temperatura de las habitaciones de animales en existencia o durante la experimentación.

Animales adultos	Gama óptima (°C)
Primates no humanos del Nuevo Mundo	20-28
Primates no humanos del Viejo Mundo	15-24
Ratón	19-23
Rata	19-23
Hamster dorado	19-23
Gerbillo	19-23
Conejillo de Indias	16-23
Conejo	16-20
Aves pequeñas	19-23
Codorniz	16-23
Paloma	15-24
Aves de corral y patos	12-24
Gato	15-24
Perro	15-24
Hurón	15-24
Cerdo	15-24
Cabra	10-24
Oveja	10-24
Ganado vacuno	10-24
Caballo	10-24

El objetivo en los establecimientos debe ser mantener la temperatura de la habitación en una banda de 4°C, que esté incluida dentro de los márgenes indicados.

Las temperaturas en las jaulas deben ser superiores a las del ambiente de la habitación. Incluso en las jaulas de ratas con suelo enrejado y en una habitación con la ventilación adecuada, la temperatura deberá estar entre 3°C y 6°C por encima de la ambiental, según la posición que tenga la jaula en la habitación (CLOUGH, 1984). Si existe materia para preparar un lecho, el animal puede manipular su entorno inmediato y ofrecer un nido caliente a sus crías. Si la capacidad termorreguladora de un animal ha sido afectada por la anestesia u otros procedimientos científicos, debería facilitársele mayor temperatura ambiente o más material para el nido (CLOUGH, 1982).

La regulación de la temperatura debe asegurar que no se producen fluctuaciones dentro de una habitación o entre una y otra, evitando así causar un estrés innecesario. En la mayoría de los establecimientos sería deseable instalar un sistema de refrigeración en aquellas habitaciones que alberguen roedores y conejos a fin de cumplir con los límites superiores para temperaturas en habitaciones.

Si ello no es posible hay medios *ad hoc*, como la reducción de la densidad de población, que pueden ser necesarios para evitar el estrés por calor.

Las colonias de cría no requieren habitualmente un control de temperatura tan estricto. Una tolerancia de  $\pm 5^{\circ}\text{C}$  puede ser suficiente siempre que los recién nacidos se mantengan calientes.

Los animales que se encuentren en el exterior o encerrados pero en condiciones similares a las de una granja podrán ser dejados a temperatura ambiente; algunas especies necesitarán sombra en verano, y en invierno calor y comida adicionales, así como un refugio.

Los requisitos para las aves varían según las especies (ver MAFF CODES y UFAW, 1987).

Los reptiles y anfibios son incapaces de controlar su temperatura corporal excepto por comportamiento. Cada especie tiene una temperatura corporal óptima y una banda dentro de la cual comerán y se comportarán naturalmente. El objetivo en el laboratorio es de procurarles dicho margen (UFAW, 1987). Cuando los anfibios sean mantenidos a baja temperatura, ellos y el entorno deben ser controlados diariamente.

Los peces deben ser mantenidos a una temperatura tan cercana a la de su entorno natural como sea posible (HAWKINS, 1981).

## Humedad relativa

Las variaciones extremas de la humedad relativa pueden tener efectos adversos en el bienestar de los animales (CLOUGH, 1984), y por afectar el ritmo de pérdida de calor, pueden influir en la actividad y en la ingestión de comida (STILLE et al., 1968).

La humedad relativa de las habitaciones de los animales debe ser mantenida en general a  $55 \pm 10\%$ , independientemente de la densidad de población; deben evitarse los periodos prolongados por debajo del 40% y por encima del 70%. En la mayoría de los casos será preciso algún sistema de humidificación. Las aves de corral son más tolerantes que los mamíferos y es adecuada una banda de 30-70% (PRINCE et al., 1965).

Para la mayoría de anfibios y algunos reptiles es deseable el 70%, pero los reptiles "secos" deben ser mantenidos entre 40-60%. Algunos anfibios y reptiles pueden requerir una humedad fuera de esas gamas (AVERY, 1979; DAVIES, 1981; SPELLERBERG, 1982).

## Ventilación

Las funciones del sistema de ventilación son:

1. Regular la humedad y la temperatura dentro de límites prescritos.

2. Reducir los niveles y la propagación de olores, gases nocivos, polvo y agentes infecciosos.
3. Proporcionar aire suficiente y de una calidad adecuada.

El índice de ventilación en una habitación estará relacionado con la densidad de población y con el calor generado por los aparatos que hayan en la habitación (carga térmica). En habitaciones de roedores y lagomorfos habitadas al completo serán necesarios 15-20 cambios por hora de aire limpio o acondicionado, distribuido por toda la estancia. Para perros, gatos y primates lo adecuado son 10-12 cambios por hora. Densidades de población más bajas permitirán menos cambios de aire. El sistema de distribución debe suministrar una proporción de aire a cada jaula o animal tan regular como sea posible, pero evitando corrientes (CLOUGH, 1987). La posición de las entradas y salidas de aire merecen especial atención para evitar corrientes y ruidos molestos. En general las condiciones ambientales para el bienestar tanto del personal como de los animales pueden ser mejoradas mediante índices de cambio de aire más altos y flujos de aire correctamente dirigidos.

El sistema de ventilación puede ser utilizado para crear diferencias de presión dentro del edificio como parte de un sistema de "barrera". Las áreas "limpias" suelen mantenerse a presiones de aire más altas que las áreas "peligrosas" a fin de minimizar el filtraje de aire "sucio" en áreas "limpias", y por lo tanto el escape de aire peligroso hacia el exterior de las instalaciones. Tales efectos sólo se consiguen si el propio aire que se suministra está libre de contaminantes o ha sido convenientemente filtrado.

Para más información del alojamiento de animales de granja ver MAFF CODES, BRITISH VETERINARY ASSOCIATION (1984), CARPENTER (1972) y CIBSE (1986-87) y, para animales de laboratorio, CLOUGH (1984, 1987) y MCSHEEHY (1976).

## Iluminación

La mayor parte de los mamíferos de laboratorio son crepusculares o nocturnos. Sus ojos por lo tanto están adaptados a la penumbra y pocos de ellos (con la excepción de los primates y, quizá, los gatos) perciben los colores. Las lesiones retinales provocadas por la luz se producen principalmente en animales albinos y son más severas si los periodos de recuperación en la oscuridad son demasiado cortos (WEISSE et al., 1974; STOTZER et al., 1970; GREENMAN et al., 1982; BELLHORN, 1980; WEIHE, 1976). Los tres aspectos importantes relacionados con la luz son intensidad, longitud de onda y fotoperiodo.

**Intensidad.**— 350-400 lux a nivel de poyata es lo adecuado para experimentos de rutina y actividades de laboratorio. Pueden requerirse medidas para evitar niveles altos no deseados dentro de las jaulas (CLOUGH, 1984; PORTER et al., 1969).

**Longitud de onda.**— Pocos animales de laboratorio salvo los primates perciben

el color, aunque existen algunos indicios de que la longitud de onda puede ejercer algún efecto (SPALDING et al., 1969a, 1969b; SALTERELLI & COPPOLA, 1979). No existen indicios indicadores de que las luces fluorescentes o incandescentes tengan ningún efecto adverso.

**Fotoperiodo.**— Está muy documentada la importancia de los ciclos Luz: Oscuridad (L:O) en la regulación de los ritmos circadianos y en el estímulo y sincronización de los ciclos de cría (CLOUGH, 1982). Para la mayoría de animales de laboratorio es adecuado un ciclo de 12:12 horas. El “reloj” circadiano de algunas especies puede quedar tan afectado por un destello de luz inferior a un segundo durante la fase oscura como por un fotoperiodo prolongado: de ahí que sea tan importante no encender luces durante el periodo de oscuridad (CLOUGH, 1982; ELLIS & FOLLET, 1983). En cambio no hay evidencia de que sean perturbadores los intervalos de oscuridad durante los periodos de luz.

**Alba y crepúsculo.**— Para algunas especies de primates, aves y peces pueden ser necesarios un alba y crepúsculo simulados. Esto se puede lograr mediante el uso de interruptores que reduzcan la luz automáticamente o lámparas de bajo voltaje que permanecen encendidas hasta, o durante, el periodo de oscuridad (STOSKOPF, 1983).

## Ventanas

Existen ventajas e inconvenientes en tener ventanas en habitaciones de animales. Las ventanas permiten fluctuaciones en la intensidad de la luz durante el día y en los fotoperiodos a lo largo del año. Interfieren en el control de temperatura, particularmente si reciben luz solar directa, y son un punto débil en la seguridad del edificio. Por otro lado, ejercen un efecto beneficioso en el bienestar del personal (CLOUGH, 1987).

## Ruido

La influencia del ruido y su importancia en relación con animales de laboratorio han sido descritas por GAMBLE (1982) y CLOUGH (1982). Los ruidos fuertes, inesperados y poco familiares son probablemente más perturbadores que los sonidos constantes. No hay indicaciones de que un zumbido de fondo continuo, por ejemplo el producido por el aire acondicionado y equipamientos similares, sea dañino para los animales sino es demasiado fuerte; sin embargo la capacidad de esos ruidos para enmascarar ruidos no está demostrada (FLETCHER, 1976; PFAFF & STECKER, 1976).

Debido a que cada especie tiene la habilidad de oír sonidos de determinados tonos (frecuencia) (CLOUGH, 1982; SALES & PYE, 1974) y intensidades (CLOUGH,

1982; PFAFF, 1974) y debido a las variaciones sonoras que se producen en los animalarios, no es posible ofrecer recomendaciones fijas para los niveles de ruido. Sin embargo está empíricamente demostrado que si el nivel general de ruido de fondo en un pabellón vacío de animales puede mantenerse inferior a 50 dB (A), por debajo de una curva sonora de 45, y no hay cambios perceptibles de frecuencia, en ese caso es improbable que puedan producirse daños a los animales y al personal cuando la estancia se encuentre en uso (CIBSE, 1986-87).

El exceso de ruidos y vibraciones suelen ser provocados por la maquinaria rotativa o alternante deficientemente equilibrada que por lo general se instala en un cuarto de máquinas. La vibración suele ser más perceptible durante el arranque de la máquina (o sea, a movimiento de baja frecuencia), cuando algunas máquinas deben pasar por una velocidad crítica (resonancia) antes de alcanzar su punto de funcionamiento normal. Tales perturbaciones pueden carecer de importancia si la máquina funciona durante periodos largos; sin embargo, las máquinas que se arrancan y para (debido a controles termostáticos o de otro tipo) pueden requerir precauciones especiales. Las vibraciones transmitidas por la base de las máquinas a la estructura del edificio pueden ser percibidas a una distancia considerable, en casos extremos incluso desde edificios vecinos (CIBSE, 1986-87).

## Entornos especiales

Se han logrado algunos avances en el objetivo de incrementar la separación entre animales y personal para ofrecer protección, entre otros, contra patógenos peligrosos (ADVISORY COMMITTEE ON DANGEROUS PATHOGENS, 1984) y para detener otras sustancias peligrosas, como cancerígenos potenciales y alérgenos. Los instrumentos adecuados incluyen mascarillas y gorros, cámaras ambientales, filtros de rejilla, cabinas de seguridad y sistemas de aislamiento (CLOUGH, 1987). Todos ellos pueden ser eficaces si se usan adecuadamente y cada uno tiene sus ventajas e inconvenientes. Dado que su utilización puede provocar un falso sentimiento de seguridad debería recabarse la opinión de un experto antes de hacer la elección, sobre todo del equipamiento más sofisticado y por lo tanto más caro.

## Alarmas de emergencia y sistemas de seguridad

Una instalación para animales moderna y que depende de la tecnología es una entidad vulnerable. Se recomienda encarecidamente que las instalaciones sean adecuadamente protegidas para detectar imprevistos tales como incendios o el fallo de equipos indispensables tales como ventiladores, calefactores, refrigera-

dores, etc, y la intrusión de personas no autorizadas. Siempre que sea posible debe procurarse que el funcionamiento del sistema de alarma cause las mínimas perturbaciones a los animales; un ejemplo de ello es la llamada alarma de fuego “silenciosa”, no audible para los roedores pequeños (CLOUGH & FASHAM, 1975).

En las instalaciones modernas que dependen de una planta eléctrica o mecánica para el control ambiental y la protección es necesario un equipo de reserva con vistas a mantener los servicios esenciales y los sistemas luminosos de emergencia, así como asegurarse de que no fallan los propios sistemas de alarma. Debe tenerse en cuenta que determinadas especies no comen si no hay luz.

Habrà que instalar instrumentos de control conectados a los sistemas de calefacción y ventilación que permitan al personal asegurarse en todo momento de que funcionan satisfactoriamente y mantienen el ambiente adecuado.

## **CUIDADO Y SALUD DE LOS ANIMALES**

Los animales que viven en un animalario dependen por completo del hombre para su salud y bienestar. Su estado físico y mental se verán influidos por el entorno, la comida, el agua y el cuidado y atenciones que les proporcione el personal. El objetivo es mantener a los animales en buena salud y condición física, con un comportamiento natural en relación con los de su especie y raza, susceptibles de ser manejados y aptos para los procedimientos científicos a los que estén destinados. Todos los animales deberían ser inspeccionados al menos una vez al día y deberían llevarse a cabo exámenes rutinarios con la suficiente frecuencia como para asegurarse de que su salud y bienestar son perfectos. Los que estén sometidos a experimentación deben ser inspeccionados con la frecuencia que requiera el propio experimento.

La responsabilidad del cuidado de animales de laboratorio recae en:

- las personas, autorizadas o no, que los utilizan, y que deben asumir la responsabilidad última respecto a sus animales.
- la persona específicamente responsable del cuidado diario de los animales.
- el veterinario ( o la persona adecuadamente cualificada ) que ofrece consejo acerca de la salud y bienestar de los animales.
- el técnico en animales.

## **FUENTES DE SUMINISTRO DE ANIMALES**

Bajo la Ley de 1986 los animales usualmente utilizados y criados para uso en laboratorio, como ratón, rata, cobaya, hámster, conejo y primates, se deben obtener en establecimientos de cría y suministro autorizados. Perros y gatos

pueden obtenerse en establecimientos de cría autorizados. El *Secretary of State* [Secretario de Estado] puede autorizar excepciones.

Ganado vacuno, corderos, cerdos, caballos, aves de corral y otras aves, reptiles, anfibios y peces pueden obtenerse en criadores especializados o en otras fuentes comerciales.

La importación de animales del extranjero está controlada por la *Animal Health Act, 1981* [Ley de salud animal] y algunas especies por la *Endangered Species (Import and Export) Act, 1976* [Ley de especies amenazadas (importación y exportación)]. Detalles acerca de licencias, certificados de salud, rabia y otros requisitos de cuarentena deben obtenerse en la *Animal Health Division*, MAFF [División de salud animal del Ministerio de Agricultura y Pesca] o en el *Department of Agriculture for Scotland (DAFS)* [Departamento de Agricultura de Escocia] y en la *Wildlife and Conservation Licensing Section, Department of the Environment (DOE)* [Sección de licencias de fauna y conservación, Departamento de Medio Ambiente], Bristol. En Irlanda del Norte está administrado por el *Department of Agriculture* [Departamento de Agricultura].

Muchos animales de campo, incluyendo pájaros, peces, reptiles y anfibios están protegidos por la *Wildlife and Countryside Act, 1981*, [Ley de fauna y campo] (en Irlanda del Norte por la *Wildlife (Northern Ireland) Order, 1985* [Decreto de fauna (Irlanda del Norte)]). Hay protección específica para tejones, focas y ciervos. La *Dangerous Wild Animal Act, 1976* [Ley de los animales salvajes peligrosos], se refiere al mantenimiento de determinados animales.

Los sistemas de trapeo (ver TWIGG, 1975; SCHEMNITZ, 1980) deben ser humanitarios y utilizados únicamente por gente competente. Si es necesaria la inmovilización química ésta debe ser llevada a cabo bajo la supervisión de un veterinario u otra persona autorizada. Puede ser necesario un permiso del MAFF.

Si en la captura de animales grandes es necesario el uso de un anestésico o agente inmovilizador, éste debe ser administrado por un veterinario u otra persona autorizada.

Las armas tranquilizadoras, incluidas las cerbatanas, están clasificadas como armas prohibidas bajo la *Firearm Act, 1968* [Ley de las armas de fuego], y sólo pueden adquirirse con la autorización del Home Office y con un permiso del Jefe de Policía local. El propio agente inmovilizador estará sujeto a un control adicional bajo la *Misuse of Drugs Act, 1971* [Ley del mal uso de los fármacos] (HOME OFFICE, 1978; PORTER, 1982).

Todo animal herido debe recibir primeros auxilios y, si es necesario, examinado tan pronto como sea posible por un veterinario.

## TRANSPORTE

El estrés durante el transporte debe ser minimizado poniendo a los animales en sus contenedores tan cómodos como sea posible, y si el confinamiento ha de

ser prolongado, suministrándoles agua y comida. El tiempo de tránsito debe ser reducido al mínimo (CLOUGH & TWONSEND, 1987; WALLACE, 1984). El expedidor debe asegurarse de que los animales a transportar gozan de buena salud y están adecuadamente etiquetados. Los animales incompatibles no deben ser transportados juntos. Los animales enfermos o heridos deben ser transportados únicamente por razones de tratamiento, diagnóstico o sacrificio de emergencia. Los animales gestantes necesitan cuidados especiales. Los animales de granja no deben ser transportados durante la última semana de gestación, y los animales pequeños durante el último quinto de la misma. El transporte de animales de granja está regulado por diversas órdenes actualmente bajo la *Animal Health Act, 1981* [Ley de salud animal], y los detalles pueden ser obtenidos en el MAFF.

Cuando los animales estén sujetos a control, según la Ley de 1986, es necesario solicitar al Inspector la autorización para trasladarlos a otras instalaciones. Cuando animales de laboratorio deban ser importados o exportados debiera pedirse consejo en el *Divisional Veterinary Officer* [Veterinario de división] local, en el MAFF y en el *Home Office* [Ministerio del Interior].

Debe solicitarse consejo del DOE para el transporte de animales de campo. Para el transporte de peces, ver HAWKINS (1981).

## Recepción

Debe sacarse a los animales de sus containers con el menor retraso posible. Tras la inspección los animales deben ser transferidos a jaulas o cuadras limpias y provistos del agua y los alimentos adecuados. Los animales enfermos, heridos o en mala condición deben ser mantenidos bajo estrecha observación, alojados por separado y examinados tan pronto como sea posible por un veterinario (u otra persona competente).

Debe mantenerse un registro de los animales recibidos, su origen y fecha de llegada. Los animales deben ser identificados etiquetando las jaulas en el caso de roedores u otros animales de laboratorio pequeños. A los perros, gatos, primates y animales de granja, si no están ya identificados, deben asignárseles números individuales, por ejemplo mediante tatuajes o crotales en las orejas. Si el marcado permanente no es practicable, por ejemplo en los titís, al animal debe colocársele un collar con su número.

## Aclimatación y cuarentena

Antes de someterlo a experimentación, es necesaria la aclimatación para que el animal se sobreponga al estrés del transporte y la subsiguiente exposición a un nuevo entorno con dieta y microflora diferentes, y al cambio en los contactos

humanos. El periodo de tiempo requerido variará de acuerdo con las circunstancias y debiera ser determinado por el usuario de acuerdo con el responsable del animalario (STEINBERG & WATSON, 1960; GRANT et al., 1971; STEYN, 1975; LANDI et al., 1982).

Todos los animales importados están obligatoriamente sometidos a control mediante las licencias concedidas por el MAFF. Puede requerirse un período de cuarentena como condición para la licencia; detalles de los requisitos pueden ser obtenidos de los veterinarios locales. *The Rabies (Importation of Dogs, Cats and other Mammals) Order, 1974* [Decreto sobre la rabia (importación de perros, gatos y otros mamíferos)], fija los periodos de cuarentena para determinados animales. Los animales capturados en el campo deben ser alojados separados de los animales criados en laboratorio para prevenir la transmisión de infecciones y puede ser necesario un periodo de aclimatación de tres meses si han de ser utilizados para la cría.

## CUIDADO Y ALOJAMIENTO

### Alojamiento de los animales

En el apartado anterior (página 38) se ha tratado del animalario y del control del entorno. El tamaño, la forma y los accesorios de jaulas y cuadras deben ser diseñados para satisfacer las necesidades fisiológicas y comportamentales de los animales. La forma de la jaula y el mobiliario suministrado pueden ser tan importantes para el animal como el tamaño de la jaula. La relación social es tan importante como la densidad de población y debe proporcionarse espacio para el crecimiento de los animales. Algunos animales continúan creciendo hasta la vejez, aunque se vuelven menos activos.

Las normas sobre dimensiones de jaulas y cuadras se ofrecen en las tablas 2-12 (páginas 52-57), en las cuales la altura y la superficie son las internas y no las dimensiones totales. Las medidas sugeridas están en la línea de las recomendaciones del Apéndice A de la Convención Europea (COUNCIL OF EUROPE, 1986). Cuando difieren es para tener en cuenta lo mejor de las prácticas actuales británicas y se pretende que las medidas sean utilizadas para indicar los estándares que los usuarios deberían tratar de alcanzar.

Las jaulas o cuadras deben estar hechas con materiales que no sean perjudiciales para la salud de los animales y que sean resistentes a los productos y técnicas de limpieza. Deben ser diseñadas para minimizar el riesgo de heridas y con suelos cómodos que permitan una fácil eliminación de los excrementos. Los animales deben ser alojados de forma que resulte sencilla su inspección.

Las cuadras para animales grandes deben tener suelos estables y no deslizantes. Si se utilizan suelos de "slant" el diseño y los acabados deben permitir a los animales yacer cómodamente sin herirse las patas, pezuñas o

DIRECTRICES DE ALOJAMIENTOS

Tabla 2. Pautas para el mantenimiento de **ratas** en el laboratorio.

Peso del animal (g)	Área mínima de suelo de jaula por animal (cm <sup>2</sup> )		Altura mínima de jaula (cm)
	Alojamiento en grupo	Alojamiento individual	
< 50	100	500	18
50-150	150	500	18
150-250	200	500	18
250-350	250	700	20
350-450	300	700	20
450-550	350	700	20
> 550	400	800	20

Notas:

Las superficies y alturas hacen referencia a las dimensiones internas de la jaula y no al tamaño total de la misma.

Cuando animales adultos de gran tamaño deban ser alojados individualmente, la superficie mínima del suelo de la jaula puede ser superior a la de la tabla.

Ver también LAWLOR (1984) y WEISS & TAYLOR (1984).

Tabla 3. Pautas para el mantenimiento de **ratones** en el laboratorio.

Peso del animal (g)	Área mínima de suelo de jaula por animal (cm <sup>2</sup> )		Altura mínima de jaula (cm)
	Alojamiento en grupo	Alojamiento individual	
< 30	60	200	12
> 30	100	200	12

Notas:

Ver notas de la tabla 2.

Tabla 4. Pautas para el mantenimiento de **cobayas** en el laboratorio.

Peso del animal (g)	Área mínima de suelo de jaula por animal (cm <sup>2</sup> )		Altura mínima de jaula (cm)
	Alojamiento en grupo	Alojamiento individual	
< 150	200	700	20
150–250	300	700	20
250–350	400	900	20
350–450	500	900	23
450–550	600	900	23
550–650	700	1000	23
> 650	750	1250	23

Notas:

Ver notas de la tabla 2.

Tabla 5. Pautas para el mantenimiento de **hámsters dorados** en el laboratorio.

Peso del animal (g)	Área mínima de suelo de jaula por animal (cm <sup>2</sup> )		Altura mínima de jaula (cm)
	Alojamiento en grupo	Alojamiento individual	
< 60	80	300	15
60– 90	100	300	15
90–120	120	300	15
> 120	165	300	15

Notas:

Ver notas de la tabla 2.

La tendencia a trepar del hámster debiera ser tomada en consideración a la hora de diseñar las jaulas.

Tabla 6. Pautas para el mantenimiento de **conejos** en el laboratorio.

Peso del animal (kg)	Área mínima de suelo de jaula por animal (cm <sup>2</sup> )	Altura mínima de jaula (cm)
< 2	2.000	40
2–4	4.000	45
4–6	5.400	45
> 6	6.000	45

Notas:

Ver notas de la tabla 2.

Los suelos deben construirse para minimizar el daño en las patas. La tabla está basada sobre ejemplares enanos (por debajo de 2 kg), Holandés y Neozelandés blanco (hasta 6 kg) y Gigante de Flandes (más de 6 kg). La superficie se basa en jaulas de hasta 50 cm de profundidad y que permiten al animal tenderse a lo largo.

Tabla 7. Pautas para el mantenimiento de **gatos** en el laboratorio.

Peso del animal (kg)	Área mínima de suelo de jaula por animal (cm <sup>2</sup> )	Altura mínima de jaula (cm)
< 3	0,50	50
> 3	0,75	80

Notas:

Ver notas de la tabla 2.

A la hora de calcular la superficie mínima de suelo, el área dedicada al estante o basar puede ser incluida.

A los gatos confinados en jaulas debería sacárseles a hacer ejercicio al menos una vez al día siempre que ello no interfiera con el experimento. Los cubículos para gatos deben estar provistos de bandejas para excreciones (que deben ser cambiadas a intervalos regulares), una zona amplia para el descanso y objetos adecuados para trepar y afilarse las uñas. Siempre que sea posible, los gatos deben ser alojados en grupos sociales.

Cuando gatos jóvenes deban ser enjaulados solos, debería proporcionárseles jaulas de la misma amplitud que a los de 3 kg.

Tabla 8. Pautas para el mantenimiento de **perros** en laboratorios.

Peso del animal (kg)	Área mínima por perro alojado en solitario	Área mínima por perro cuando hay 2 o más por jaula (m <sup>2</sup> )	Altura mínima de jaula (cm)
< 5	4,5	1,0	1,5
< 6-9	4,5	1,9	1,5
< 10-25	4,5	2,25	2,0
< 26-35	6,5	3,25	2,0
> 35	8,0	4,0	2,0

Notas:

Ver notas de la tabla 2.

Los perros con acceso permanente al exterior deben disponer de un refugio en el que buscar protección contra condiciones climatológicas adversas. Deberían evitarse los suelos de rejilla a menos que lo requiera el experimento. Las particiones entre perreras deben hacerse de forma que minimicen los riesgos de que los perros se hagan daño ellos mismos o entre sí. Todas las perreras deben tener el drenaje adecuado.

El espacio mínimo de suelo de una perrera debiera ser 4,5 m<sup>2</sup>. Pueden vivir dos o más perros en ese área dependiendo de su peso. Cuando un perro deba ser confinado en una superficie menor el periodo de confinamiento no debiera ser superior a una noche.

Los perros siempre tienen necesidad del contacto humano.

Los perros compatibles pueden ser mantenidos en parejas. Cuando no puedan estar en parejas, sus jaulas deben estar situadas de forma que puedan verse uno a otro, pero debiera existir la posibilidad de impedirlo cuando lo precise el experimento.

Siempre que sea posible, todos los perros debieran tener acceso a las áreas de ejercicio.

Tabla 9. Pautas provisionales para el mantenimiento de **primates no humanos** en el laboratorio.

Tipo de primate	Peso (kg)	Nº de animales	Área mínima de suelo (m <sup>2</sup> )	Altura mínima (cm)
<b>Monógamos arbóreos</b>				
p.e. <i>Callithrix</i>				
Sin criar (hermanos de =sexo)	0,025 - 0,65	1 - 2	0,25	80
Criando (grupo familiar)	0,30 - 0,65	2 - 6 2 - 8	0,8 1,0	100 100
<b>Polígamos arbóreo</b>				
p.e. <i>Saimiri</i>				
Sin criar	0,7 - 1,4	1 - 2 3 - 4 8 - 10	0,5 1,0 1,7	100 100 150
Criando	1,0 - 1,4	5 - 10 (adultos)	2,0	150
<b>Cercopitecoideos *</b>				
p.e. <i>Papio</i> , <i>Macaca</i>				
Sin criar cría	< 4	1	0,6	100
		2	1,2	100
	4-6	1	0,8	110
		2	1,6	110
	> 6	1	1,4	150
		2	2,8	150
Criando	Varios pesos	10	25,0	200
	Grupos	10	25,0	200

Notas:

Ver notas de la tabla 2.

\* Ver página 60 para detalles u otros estudios.

Tabla 10. Pautas para el mantenimiento de **hurones y nutrias** en el laboratorio.

Peso del animal (g)	Área mínima en jaula por animal (cm <sup>2</sup> )	Altura mínima de jaula (cm)
< 800	2.250	50
> 800	4.500	50

Notas:

Ver notas de la tabla 2.

Tabla 11. Pautas para acomodar **animales de granja** en cuadras de laboratorio.

Especies y pesos (kg)	Área mínima de cuadra en solitario (m <sup>2</sup> )	Área mínima de cuadra para grupos (m <sup>2</sup> /animal)	Longitud mínima de comedero (m)
<b>Cerdos</b>			
10 - 30	2,0	1,0	0,20
30 - 50	2,0	1,3	0,25
50 - 100	3,0	1,7	0,30
100 - 150	4,0	2,0	0,35
> 150	5,0	3,75	0,40
Jabalí adulto	7,5	-	0,50
<b>Cabras y ovejas</b>			
< 35	2,0	1,2	0,35
> 35	2,8	1,8	0,35
<b>Vacuno</b>			
< 60	2,2	1,3	0,30
60 - 100	2,4	1,7	0,30
100 - 150	2,8	2,0	0,35
150 - 200	3,6	2,4	0,40
200 - 400	5,7	3,6	0,55
> 400	8,0	4,8	0,65
Toros adultos	16,0	-	0,65
<b>Caballos</b>			
Altura en la cruz			
< 147 cm (14,2 manos)	12	-	-
148 - 160 cm	17	-	-
> 160 cm	20	-	-

Notas:

Ver notas de la tabla 2.

Cuando sea posible, los animales deben ser alojados unos a la vista de otros. Cuando sean alojados en grupos el ganado con cuernos requerirá más espacio. Las cuadras deben ser rectangulares mejor que cuadradas, la anchura de la cuadra no debe ser menor que la longitud del animal desde el hocico a la base de la cola.

Tabla 12. Pautas para mantener aves en jaulas en el laboratorio.

Especies y pesos (g)	Área mínima (cm <sup>2</sup> )				
	Para 1 individuo	Para 2 individuos	Para 3 individuos	Altura mínima de jaula (cm)	Anchura mínima comedero (cm)
<b>Pollos y patos</b>					
100 - 300	350	300	250	30	3
300 - 600	700	600	450	40	7
600 - 1200	1250	800	600	50	10
1200 - 1800	1450	950	850	50	12
1800 - 2400	1700	1200	1000	55	12
> 2400	2800	2000	1600	75	15
<b>Codornices</b>					
120 - 150	350	250	200	20	4
150 - 250	400	300	250	25	4
<b>Palomas</b>					
Hasta 400	1225	-	-	35	5

Notas:

“Área” significa el producto de la longitud de la jaula por su anchura, medidas internas y horizontalmente, no el producto de la longitud por la anchura del suelo, ya que podría estar en pendiente.

Para la definición de “altura de la jaula”, ver notas en la tabla 2.

La retícula en los suelos enrejados no debiera ser superior a 10 x 10 mm para pollos jóvenes y a 25 x 25 mm para los adultos. El alambre debería tener como mínimo 2 mm de grosor. La inclinación del suelo no debe exceder el 14% (8°). Los bebederos deben ser tan largos como los comederos. Si se utilizan tetinas y cuencos, cada ave debe tener acceso a dos. Las jaulas deben estar provistas de posaderos y permitir a las aves alojadas individualmente verse unas a otras.

Cuando se alojan juntos pollos y codornices hay que tener especial cuidado con los picoteos de plumas. Cuando se alojan aves maduras las jaulas deben ser lo bastante amplias como para que la parte superior de ésta no choque contra la cabeza del ave.

Palomas y pinzones deben ser alojados en aviarios más grandes siempre que ello sea posible.

ubres. Las vacas alojadas en suelos de ese tipo deben disponer de una área separada con suelo sólido, provista de paja o material para cama (MAFF CODES).

Suelos, paredes y puertas deben tener superficies resistentes al roce y a los destrozos provocados por los animales o los procedimientos de limpieza.

Los animales de granja pueden ser mantenidos, durante la experimentación, en recintos, patios, etc., que hayan sido designados para tal propósito.

Las cuadras o jaulas para la recuperación postoperatoria pueden ser de medidas inferiores a las recomendadas, y determinados experimentos pueden requerir un sistema de alojamiento más restrictivo, pero esto sólo debiera ocurrir durante un limitado periodo de tiempo.

## Material para camas y nidos

Las camas deben ser cómodas para cada especie en particular, secas, absorbentes, no polvorientas ni tóxicas y libres de agentes infecciosos, plagas y otras formas de contaminación. El serrín o la viruta no deben proceder de madera que haya sido tratada químicamente. El material para nidos debe proporcionar aislamiento pero sin poner en peligro a los animales jóvenes o adultos (UFAW, 1987). Cuando se alojen animales grandes en suelos de cemento, deberá utilizarse material adecuado para proteger los puntos de presión sobre los que se apoya el animal.

## Alimentos

La dieta debe ser establecida para satisfacer las necesidades nutricionales de los animales (CLARKE et al., 1977). En la selección, producción y preparación de los alimentos deben tomarse precauciones para evitar contaminaciones de tipo químico, físico o microbiológico. Cuando sea posible, la comida debe ser empaquetada en bolsas herméticas y que lleven la fecha de preparación. Durante el empaquetado, transporte y almacenamiento deben evitarse la contaminación, el deterioro o la destrucción de los alimentos. Los alimentos perecederos deberían almacenarse en habitaciones frescas, frigoríficos o neveras.

Las dietas para animales libres de patógenos deben ser en tratadas para destruir organismos vegetativos, parásitos, plagas y esporas. Las dietas para animales libres de gérmenes o genobióticos deben esterilizarse por medio del autoclave o de radiaciones (COATES, 1984).

Las tolvas para comida y el resto de utensilios deberían limpiarse regularmente y, posiblemente, esterilizarlos. Si se utiliza comida húmeda o fácilmente contaminable es esencial la limpieza diaria.

El método de dar el alimento variará según las especies. Cuando se mantiene a los animales en grupo hay que asegurarse de que los animales subordinados tienen el acceso adecuado a la comida y el agua. Debe evitarse la obesidad controlando la ingestión de alimento (TUCKER, 1984; EVA, 1984).

Para la nutrición de peces, véase HALVER (1972).

## Agua

El agua potable debería estar a disposición de todos los animales en todo momento. Normalmente se les suministra por medio de botellas u otros recipientes, o por un sistema automático. Durante el transporte es aceptable en determinados casos suministrar el agua en la forma de dieta húmeda (PETERS & BYWATER, 1985).

El agua es un vehículo para los microorganismos y el sistema de suministro debe minimizar este peligro. Cuando se utilizan botellas, éstas deben ser esterilizables y ser transparentes o translúcidas para poder observar el contenido. Deben tener el cuello amplio para facilitar su limpieza. Si se utilizan en material plástico éste debe ser resistente a la lixiviación y adecuado para la esterilización. Las tapas, tapones y tubos deberían asimismo ser esterilizables y fáciles de limpiar. Todas las botellas y accesorios deben ser desmontados, limpiados y esterilizados regularmente. Las botellas deben ser reemplazadas por otras llenas y limpias en lugar de ser rellenadas en la habitación de los animales. Conviene que los abrevaderos no se vuelquen o derramen fácilmente.

Debe comprobarse diariamente el funcionamiento de los sistemas automáticos; hay que revisarlos adecuadamente y limpiarlos con regularidad para evitar su mal funcionamiento o el riesgo de propagar infecciones. Hay que controlar la calidad y pureza del agua para evitar la contaminación bacteriana. Si se utilizan jaulas con el suelo sólido hay que tomar precauciones para evitar inundaciones. Hay que tener disponibles suministros de emergencia para el caso de que se hielen las cañerías o se produzca algún otro fallo.

El éxito en el mantenimiento de peces en el laboratorio depende de que la calidad del agua esté siempre dentro de los límites que permiten su supervivencia y crecimiento. Los restos de la comida consumida y los excrementos deben ser retirados de los tanques, y la concentración de oxígeno disuelto debería ser mantenida al menos a 5mg/l. En la preparación del agua para acuarios de agua salada las especificaciones son muy importantes (STEPHAN, 1975; APHA-AWWA-WPCF, 1975; ADEMA, 1980; HAWKINS, 1981).

La tolerancia de peces, anfibios y reptiles a los cambios de pH, cloro y otras sustancias químicas difiere ampliamente de unas especies a otras y la calidad del agua en acuarios y tanques debe estar acorde con esas diferencias de necesidades y límites de tolerancia.

## Ejercicio y manejo

Debe permitirse a todos los animales hacer ejercicio. Para las especies más pequeñas ello se logra habitualmente proporcionándoles las medidas de jaula adecuadas. Para las especies más grandes (en particular perros y primates) hay que tomar medidas especiales para facilitar el contacto social y el ejercicio. El ejercicio en pasadizos o pasillos puede ser adecuado siempre que se pueda disponer de espacio y tiempo suficiente y no moleste a los restantes animales.

El comportamiento de un animal durante un experimento depende en gran medida de su confianza en el cuidador, que puede ser establecida mediante un contacto humano regular. Dicha confianza, una vez existe, debe ser mantenida. Cuando sea posible hay que buscar tiempo para el trato y el contacto. Todo

el personal, tanto técnico como científico, debe ser amistoso, cariñoso y firme en el trato con los animales.

## Limpieza

La limpieza regular y el mantenimiento, así como un alto nivel de higiene, son esenciales para un buen manejo de los animales. Hay que establecer rutinas en la limpieza, lavado, descontaminación y esterilización de jaulas y accesorios.

Para más información acerca del cuidado de animales, ver UFAW (1987).

## Consideraciones especiales: animales salvajes

Los animales capturados en la naturaleza o que están siendo preparados para ser devueltos a ella deben ser mantenidos en unas condiciones lo más parecidas posible a su hábitat natural en aspectos tales como intensidad de la luz, alimento, etc.

El tratamiento contra ectoparásitos es normalmente necesario, pero debe tenerse gran cuidado en la elección del insecticida y del método de aplicación; ésto ayudará a minimizar los efectos metabólicos.

Las crías de animales silvestres pueden ser mantenidas en las condiciones normales de laboratorio y alimentadas con dietas a base de piensos.

Para información general acerca del cuidado y manejo de animales salvajes ver SCHEMNITZ (1980) y CANADIAN COUNCIL ON ANIMAL CARE (1984).

## Consideraciones especiales: primates

El orden **primates** incluye tanto el lémur ratón, de 60 g de peso, hasta el gorila de 200 kg, y abarca un amplio abanico de estilos de vida. A la hora de proporcionar en el laboratorio un entorno adecuado para un grupo tan diverso lo mejor es trabajar desde un conocimiento completo de las necesidades biológicas de cada especie. Los primates poseen una notoria inteligencia, la mayoría son arbóreos y todos necesitan entornos complejos y estimulantes. El alojamiento debe proporcionarles el espacio adecuado, complejidad (por ejemplo dietas variadas, mobiliario en la jaula) y oportunidades para la interacción social.

Su utilización del espacio implica que el volumen de la jaula es importante. Virtualmente todos muestran una reacción de huida vertical; la altura de la jaula debe permitírsele, así como el permanecer erecto, saltar y trepar o sentarse en una percha sin que la cola o la cabeza toquen la jaula. Las perchas y columpios pueden ser mordidos y necesitarán ser reemplazados periódicamente.

Ningún primate debería ser alojado en una jaula en la que alguna de sus dimensiones sea menor que el doble de la distancia entre su cogote y rabadilla. Las jaulas deben tener una superficie de suelo adecuada para las especies más terrestres.

La mayoría de especies son altamente sociales y deben ser alojadas de forma que tengan interacciones sociales. Esto puede conseguirse mediante un cuidadoso diseño del sistema de alojamiento individual, en pareja o en grupo. Se pueden establecer grupos sociales armoniosos; en algunos casos son compatibles individuos del mismo sexo que se desconocen, mientras que en otros sólo pueden ser alojados juntos extraños del sexo opuesto lo que no es aceptable si no se desea que críen. Siempre que sea posible, el sistema de jaulas debe ser flexible, con paredes móviles para permitir el acceso a unidades adyacentes. Si los animales no pueden ser alojados juntos las jaulas deben ser dispuestas de modo que alcancen a verse unos a otros, al menos durante algunos ratos. Un contacto social intermitente es mejor que la falta total de contacto.

El sistema de manejo menos perturbador es adiestrar al animal para que coopere en procedimientos de rutina. Se debe sacar ventaja de la capacidad de aprendizaje de los animales; los especímenes jóvenes nacidos en cautividad, con una vida social adecuada y que están familiarizados con los cuidadores, son los más satisfactorios.

Todos los sistemas deben ser seguros y ofrecer el mínimo riesgo para animales y cuidadores.

La tabla 9 (página 51) ofrece ejemplos de las jaulas adecuadas para los tres tipos de primate más comúnmente utilizados en laboratorio, pero las dimensiones recomendadas pueden necesitar ser adaptadas a las circunstancias particulares. La UFAW, con el apoyo de la ABPI, ha encargado un estudio sobre el alojamiento y bienestar de las dos especies de primates más comúnmente usadas en el Reino Unido, es decir el macaco cangrejero *Macaca fascicularis*, y el babuino o papión amarillo, *Papio cynocephalus*. El resultado de dicho estudio será dado a conocer en 1988 y puede provocar la revisión de las cifras provisionalmente ofrecidas en la tabla 9.

Otras consideraciones acerca de las especies incluyen lo siguiente:

**Monos arbóreos monógamos** (por ejemplo el tití común).— Una pareja de cría producirá gemelos o trillizos cada cinco meses y debe permitirse que el grupo alcance los 6-8 individuos. Los gemelos o trillizos primeros deben mantenerse juntos hasta los 15-18 meses de edad antes de ser apareados con individuos no familiares. Las parejas nuevas no deben ser alojadas en la proximidad de miembros de la familia porque ello puede inhibir la reproducción. Debe evitarse el aislamiento superior a unos días de los individuos que no estén criando, manteniéndolos preferiblemente en grupos de hermanos del mismo sexo.

Animales no familiarizados entre sí y del mismo sexo (incluidos los jóvenes) no deben ser alojados en la misma jaula porque podrían pelearse.

Las jaulas deben incluir perchas de madera, un columpio, una caja-nido de madera, una repisa para la alimentación y un sustrato de viruta para permitir el forrajeo. Los animales deben disponer del espacio necesario para saltar horizontalmente de una repisa a otra.

**Monos arbóreos polígamos** (por ejemplo, el mono ardilla).– Un grupo de cría puede consistir en dos machos compatibles y ocho hembras. La jaula debe tener dos compartimientos para que ambos sexos puedan ser mantenidos aparte, y las hembras deben poder separarse del resto del grupo para parir. Los individuos subadultos pueden ser retirados y alojados o en jaulas de grupos del mismo sexo.

Los animales que no esten criando pueden ser puestos en jaulas con grupos del mismo sexo. Las jaulas deben disponer de los mismos accesorios que las de los titís.

**Cercopitecos semiterrestres polígamos/promiscuos** (por ejemplo macacos y papiones).– El grupo de cría recomendado está compuesto por un macho y hasta 12 hembras. Las hembras deben disponer del espacio adecuado o de medios de escape si el macho las acosa. Tiene que haber varias entradas a la zona de dormitorio. Es necesario controlar los grupos para comprobar si alguno de los individuos está siendo intimidado. Deben disponer de varios comederos y bebederos.

Las hembras que no estén criando pueden mantenerse juntas. Los machos son altamente agresivos y competitivos y debe asegurarse su compatibilidad antes de alojarlos juntos.

Cualquier animal alojado individualmente debe ser controlado periódicamente para evaluar sus necesidades sociales y ambientales.

## **SALUD DE LOS ANIMALES**

Animales de laboratorio saludables es un prerequisite esencial para la ciencia. Las infecciones intercurrentes en la población animal pueden poner en cuestión la validez de la información obtenida en la experimentación y hacer imposible la interpretación de los resultados.

Es esencial que, de acuerdo con el veterinario consultor, se tomen medidas para controlar la posible aparición de enfermedades. Debe mantenerse un registro eficaz de salud y enfermedad y tenerlo listo para ser inspeccionado. Debería incluir información sobre entradas, salidas, tratamientos y muertes.

### Fuentes y manejo de animales

La mayoría de especies de laboratorio han sido criadas para ello, y para procedimientos experimentales pueden adquirirse animales sanos y de un estatus

microbiológico conocido. Animales procedentes de fuentes menos controlables, como los salvajes, pueden albergar patógenos transmisibles tanto a las personas como a otras especies. Allí donde exista peligro de que se propague una enfermedad, deben tomarse medidas de cara a un aislamiento espacial y a un manejo adecuado para ayudar a reducir riesgos.

Los animales que sean deliberadamente inoculados con patógenos deben mantenerse a un nivel de aislamiento acorde con las recomendaciones prescritas por el ADVISORY COMMITTEE ON DANGEROUS PATHOGENS (1984). Puede obtenerse más información en el *Health and Safety Executive* en Bootle (Merseyside).

### Animales convencionales

El término “convencional” se utiliza para describir animales que son criados con un sistema de barrera mínimo y que pueden por tanto portar organismos patógenos para sí mismos o para otras especies. El control de enfermedades en poblaciones de tales animales puede conseguirse mediante el uso de las vacunas o quimioterapia adecuadas. Los individuos que muestren síntomas de enfermedad deben ser aislados y tratados, o sacrificados.

Los animales que pueden portar agentes zoonóticos deben ser enjaulados, tratados y manejados de tal forma que se minimice cualquier riesgo de transmisión de la infección.

### Animales microbiológicamente definidos

El objetivo del manejo de animales microbiológicamente definidos es asegurarse de que su estatus microbiológico permanece idéntico a lo largo de su vida. Esto se puede conseguir por medio de barreras que separen a los animales de posibles focos de infección.

Los animales libres de organismos patógenos específicos requieren ser mantenidos en edificios en los que se les suministra aire filtrado y alimentos y agua tratados, y en los que jaulas, utensilios, etc. son adecuadamente desinfectados. Al personal de tales unidades se le requiere que adopte medidas de higiene y vista ropas que prevengan la transmisión de enfermedades a los animales bajo su cuidado. El acceso de personal a tales unidades debe ser limitado a fin de minimizar la posibilidad de introducir infecciones. Dentro de esas unidades cerradas por barreras se recomienda el aislamiento físico de las poblaciones experimentales distintas para reducir aún más el riesgo de introducir enfermedades. Es necesaria la vigilancia microbiológica regular para asegurarse de que se mantiene el estándar concreto de la población.

Los animales genobióticos precisan una completa separación física de los contaminantes ambientales por lo que son esenciales las técnicas de aislamiento (COATES & GUSTAFSEN, 1984).

## SACRIFICIO HUMANITARIO DE ANIMALES

Los métodos estándar para eliminar humanitariamente animales de laboratorio están enumerados en la Lista 1 de la Ley de 1986.

El sacrificio de un animal por motivos científicos no requiere de una licencia especial si el método empleado es uno de los descritos en la Lista 1.

Si el animal ya no está siendo objeto de experimentación pero está sufriendo o seguramente sufrirá efectos adversos, la persona que ha estado llevando a cabo los procedimientos es responsable de que el animal sea sacrificado de inmediato mediante un método adecuado.

Siempre que sea posible, el animal que ha de ser sacrificado, debe quitarse de la presencia de los otros y ser manejado con cuidado para que no esté asustado u hostil. Los métodos que no son instantáneos deben ser realizados lo más rápidamente posible y con el mínimo estrés, y el animal debe estar inconsciente hasta el momento de su muerte. Se debe comprobar la muerte del animal por medio de un reconocimiento físico o por exsanguinación, corte de los vasos sanguíneos mayores o de los ventrículos del corazón. La muerte ha de haber sido confirmada antes de deshacerse del animal. Únicamente debe autorizarse al personal cualificado a sacrificar animales.

## MÉTODOS DE EUTANASIA

### Inhalación de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>)

Es adecuada para pequeños roedores y aves; los animales deben ser expuestos a una atmósfera de 30-40 % de CO<sub>2</sub> (para asegurar la pérdida del conocimiento) que se incrementa hasta 70 % para sacrificar a los animales. Esto se puede hacer colocando al animal en un recipiente lleno de aire e introducir el gas hasta que la concentración suba al 70 %, manteniéndolo así durante tres minutos como mínimo. Los animales pueden dejarse en el contenedor hasta que aparezca el *rigor mortis*, o se les puede sacar y asegurarse de su muerte bien por exanguinación o por dislocación del cuello, y confirmar su muerte. Los animales neonatos necesitan una exposición más prolongada que los adultos.

## Inhalación de anestésico volátil

Para pequeños roedores es conveniente una exposición prolongada que dé lugar a una sobredosis; cuando se use la sobredosis de anestésico no debe producirse contacto entre el animal y el anestésico en su estado líquido. El procedimiento debe ser llevado a cabo siempre en una campana de humos o en una habitación bien ventilada para que el operador no se vea sometido a una exposición prolongada del vapor.

## Inyección de anestésico

Es adecuada para todas las especies y el método ideal para las grandes especies; la sobredosis debe ser administrada por vía intravenosa o intraperitoneal, y debe ser suficiente para asegurar una rápida inconsciencia y muerte.

## Exanguinación

El desangrador puede ser admisible bajo anestesia profunda, pero no es un método contemplado en la Lista 1 y por lo tanto requiere una autorización especial.

## Métodos físicos

Dislocación de las vértebras cervicales: adecuada para pequeños roedores, conejos pequeños y aves más grandes (UFAW, 1978).

Conmoción: mediante un golpe en la nuca del animal. Este método queda restringido a los animales fáciles de manejar y con el cráneo relativamente delgado, por ejemplo roedores pequeños y las aves menores.

Decapitación: utilizada con los roedores cuando los restantes métodos no son adecuados, por ejemplo si hay que determinar niveles enzimáticos. Este método únicamente debe ser utilizado recurriendo a una guillotina especialmente diseñada y adecuadamente manejada. No es un método de la Lista 1 excepto para vertebrados de sangre fría.

## Animales de granja

Cuando sea adecuado, y previo permiso del inspector del *Home Office* [Ministerio del Interior], pueden tomarse las medidas precisas para enviar los animales a un matadero autorizado. Si esto no es posible, pueden utilizarse los siguientes

métodos como alternativa a la inyección de anestésico. No son métodos contemplados en la Lista 1.

Ganado vacuno. Aturdimiento mediante un perno fijo seguido de sangría o destrucción del cerebro y médula espinal.

Caballos. Un disparo de bala. Correctamente utilizado, el animal cae muerto instantáneamente y no se requieren acciones posteriores. Si persiste la respiración será necesario un segundo disparo.

Ovejas y cabras. Exanguinación tras aturdimiento por medio de un perno fijo o descarga eléctrica.

Cerdos. Hasta los 70 kg de peso en vivo, aturdimiento eléctrico o traumático seguido de destrucción del cerebro y médula espinal, o bien exanguinación. Para cerdos de mayor peso el aturdimiento mediante descarga eléctrica de bajo voltaje no es adecuado.

## Peces

Bajo la Lista 1, los peces deben ser destruidos mediante un golpe seco en la cabeza seguido de la destrucción del cerebro. Aunque no sea requisito bajo la Lista 1, la electronarcosis o galvanarcosis puede ser utilizada para inmovilizar al pez que ha de ser sacrificado.

Si se necesitan los cadáveres intactos, puede añadirse al agua una sobredosis de anestésico seguida de la destrucción del cerebro (ver TYTLER & HAWKINS, 1981).

## Anfibios y reptiles

Cuando sea posible, debe utilizarse una sobredosis de agente anestésico. Cuando se sacrifican vertebrados de sangre fría mediante decapitación el cerebro debe ser destruido de inmediato.

Para más información sobre la eutanasia en todas las especies véase AVMA PANEL (1986).

## **ELIMINACIÓN DE ANIMALES MUERTOS**

### Animales de laboratorio

Es esencial asegurarse de que el animal está muerto antes de deshacerse de él. Hay que observar al animal durante varios minutos después de que haya cesado

todo signo de vida. Alternativamente, puede dislocársele el cuello o desanjarlo. Es preferible eliminarlo in situ por vía de incineración. Si ello no es posible hay que tener cuidado de no exponer los cadáveres al público general. Cadáveres infectados, tóxicos o radiactivos deben ser eliminados de forma que no representen un peligro.

### Animales de granja

Los cadáveres deben ser entregados, cuando convenga, a un profesional autorizado en el reciclaje de animales. Los cadáveres tóxicos, infectados o radiactivos deben ser eliminados de forma que no representen un peligro público.

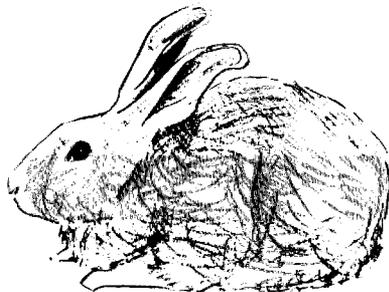
## CONCLUSIÓN

En la Ley de 1986 subyace el principio de que los animales criados, vendidos o utilizados con fines científicos deben ser tratados de acuerdo con los mejores estándares en la cría de animales.

Aunque se recomiendan las medidas de jaulas y cuadras, desde el punto de vista del animal su forma y mobiliario de pueden ser más importantes que el tamaño, y la relación social con sus semejantes más importante que la densidad de población. Los cuidados proporcionados por el personal, puede que sean el factor más importante de todos.

El conocimiento de las necesidades de los animales se está ampliando continuamente y es necesario que siga compartiéndose. Los criadores están siempre muy dispuestos a ofrecer detalles acerca de la calidad de los animales que suministran: las personas autorizadas a su manejo, los técnicos, los cuidadores del animalario y los veterinarios responsables del cuidado de los animales deberían compartir sus experiencias y conocimientos, y en caso de necesidad recabar el consejo de los inspectores del *Home Office*. Corresponde a todos los interesados mantenerse informados de las mejoras que puedan incrementar los estándares de cría de animales de laboratorio bajo su cuidado.

### 3. DOLOR, ANALGESIA Y ANESTESIA



### 3. DOLOR, ANALGESIA Y ANESTESIA

Todos los que utilizan animales para procedimientos científicos tienen la inexcusable obligación de ser capaces de reconocer los síntomas de que un animal está sufriendo, minimizar el dolor mediante medidas preventivas y controlarlo mediante el uso de agentes analgésicos y anestésicos.

Esta obligación se encuentra actualmente reforzada en el Reino Unido por el marco legal de la *Animals (Scientific Procedures) Act, 1986* [Ley de los animales (procederes científicos)]. Esta Ley controla los procedimientos científicos que pueden causar dolor, sufrimiento, malestar o daños duraderos a un animal. En las orientaciones publicadas por el *Home Office* [Ministerio del Interior] tras dicha Ley, tales efectos se han regulado de acuerdo con su gravedad y están agrupados en tres categorías **-suave, moderada y considerable-** de forma que cualquier efecto adverso sobre los animales puede ser comparado con los beneficios que reporta el trabajo realizado (HOME OFFICE, 1986).

Los científicos deben ser capaces de conocer por el comportamiento y otros síntomas el límite particular del grado de sufrimiento autorizado para ese procedimiento. Tienen que estar en situación de poder controlar el experimento para no exceder el límite de gravedad autorizado. Si el dolor, el sufrimiento o el malestar no pueden ser reducidos al límite autorizado, el inspector del *Home Office* debe ser informado de inmediato. La Ley exige que si un animal sufre intenso dolor o sufrimiento que no puede ser aliviado, la persona autorizada debe asegurarse de que el animal es eliminado sin dilación y de un modo indoloro.

Las recomendaciones del *Home Office* establecen que la administración a un animal de un analgésico o cualquier otra sustancia para sedar o reducir la percepción de un animal, o su descerebración o cualquier procedimiento para dejarlo insensible, si es llevada a cabo con motivo de un experimento o cualquier otro procedimiento científico, es en sí misma un procedimiento regulado y por lo tanto sólo puede ser realizada por alguien en posesión de un permiso. Sin embargo, el uso terapéutico de analgésicos u otras medicaciones no está tan restringido, por ejemplo si es en beneficio del animal más que por un objetivo específico del procedimiento.

# DOLOR

## DESCRIPCIÓN Y DEFINICIONES

El dolor es un fenómeno complejo que sólo puede ser percibido por el animal consciente. Es causado por un estímulo potencialmente dañino que provoca una sensación desagradable cuya intensidad puede variar desde lo suavemente desagradable hasta lo intolerable. Entre ambos extremos habrá todo un espectro de dolor que podrá ser tolerado en diferente grado por cada animal con o sin la ayuda de analgésicos. La conciencia del dolor puede ayudar a los animales a evitar estímulos nocivos; el dolor no es necesariamente del todo malo.

La reacción al dolor puede ser comunicada a los demás mediante comportamiento, vocalizaciones o, en el hombre, la palabra. La percepción del dolor en los animales puede no ser la misma que en los humanos, pero que ellos lo perciben como algo que debe ser evitado queda fuera de toda duda.

Puede establecerse una distinción útil entre lo que es percepción consciente del **dolor** y la respuesta de reflejo inconsciente a la **nociocepción**, o sea, el estímulo de un receptor de lesión (IGGO, 1985). La referencia a la consciencia implica el estado de alerta en que un animal puede percibir estímulos sensoriales y no una consciencia introspectiva que se define más adecuadamente como autoconsciencia. Ver también MELZAC & WALL (1982).

El dolor es, evidentemente, difícil de definir, pero hay tres definiciones de trabajo que pueden resultarnos útiles:

1. El dolor (en el ser humano) es una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada con lesión real o potencial de tejido, o descrita como tal lesión (IASP, 1979).
2. El dolor en los animales es una experiencia sensorial negativa que provoca actos motrices protectores, da lugar a una huida aprendida y puede modificar el comportamiento de la especie, incluyendo el comportamiento social (ZIMMERMAN, 1986).
3. El dolor es una experiencia sensorial adversa causada por lesiones reales o potenciales y que es acompañada de reacciones protectoras somáticas y viscerales y que induce cambios en el comportamiento incluyendo el comportamiento social que puede ser específico para un individuo (AVTRW, 1989).

## SÍNTOMAS DE DOLOR

La respuesta de un animal a un estímulo nociocectivo puede ser estereotipada o aprendida. Tal respuesta puede o no penetrar en la consciencia, y si lo hace

puede provocar efectos a largo plazo. Las respuestas iniciales de huida a un estímulo agudo, son notoriamente similares en todos los vertebrados y no son difíciles de reconocer. Pero las respuestas a períodos repetidos o prolongados de dolor serán lógicamente diferentes entre las especies y por supuesto entre los individuos. Todos los científicos que trabajan con animales deberían, por tanto, familiarizarse con el comportamiento normal de las especies a las que pertenecen.

Los síntomas de dolor de baja intensidad o de duración prolongada pueden pasar inadvertidos para el observador ocasional. Es el científico experimentado, el técnico que cuida diariamente de los animales, o un veterinario de similar experiencia quienes probablemente detectarán los primeros síntomas de dolor. Por ello, es importante, que antes de empezar a utilizar animales vivos, los científicos pidan consejo a quienes poseen experiencia con esas especies y así aprender las formas en que los animales pueden mostrar síntomas de dolor.

Cualquier desviación del comportamiento normal puede indicar dolor, sufrimiento, perturbación o daño duradero. Por ejemplo un comportamiento negativo como la inactividad o la incapacidad para espulgarse o comer. BARCLAY et al. (1988) describen un método comportamental de evaluar el rigor de los experimentos más corrientes de laboratorio, sobre los roedores, mediante el uso de un índice de perturbación. Para conocer el comportamiento específico, relacionado con el dolor, véase MORTON & GRIFFITHS (1985), KITCHELL & JOHNSON (1985), FLECKNELL (1987) y AVTRW (1989).

## CONTROL DEL DOLOR

El control del dolor en los animales es importante, por razones humanitarias y porque es de sentido común en el diseño de una investigación científica. A menos que el estudio del dolor sea uno de los objetivos del experimento, los efectos del dolor en el animal pueden confundir los resultados, por ejemplo la restricción de movimientos, la reducción de ingestión de comida y agua, la prolongación de la recuperación tras una operación, y la introducción de otras variables que pueden interferir en los datos de base. Los procedimientos dolorosos deben ser evitados siempre que sea posible en el diseño de todo experimento con animales.

Cuando sea necesario infligir dolor como parte de un experimento, por ejemplo para estudiar agentes analgésicos, aquél debe ser el mínimo, justo el suficiente como para provocar un efecto valorable. Si ello es posible, el animal debería ser capaz de evitar o limitar el estímulo doloroso, y la causa del dolor debe producir el mínimo daño al tejido, especialmente en estructuras tan sensibles como los ojos. En cualquier caso, no debiera exponerse al dolor a más animales de los necesarios.

El dolor puede ser minimizado permitiendo a los animales aclimatarse a entornos nuevos o a métodos de sujeción; por medio de una manipulación experta y por un alto nivel de competencia en la ejecución de técnicas tales como simples inyecciones, sondaje oral, etc. El dolor postoperatorio puede ser reducido mediante un elevado nivel quirúrgico; por medio de una técnica firme y decidida, pero suave; evitando traumas innecesarios provocados al estirar los bordes de una herida; evitando una manipulación excesiva de las vísceras o la tracción sobre órganos sensibles y, lo más importante, evitando la infección y la septicemia. En todo momento se debe disponer de medicación y cuidados adecuados.

## **ANALGESIA**

### **TERAPÉUTICA ANALGÉSICA**

Los agentes analgésicos son sustancias específicamente diseñadas para abolir temporalmente la consciencia del dolor; sin embargo, aunque éste sea su propósito primordial, tienen asimismo efectos secundarios. De la misma forma, los sedantes, que son agentes narcóticos utilizados para calmar a sujetos nerviosos o agitados, pueden no tener una actividad analgésica específica, pero pueden ser utilizados para reducir en el animal la consciencia y la ansiedad asociadas con el dolor. Muchos sedantes provocan somnolencia o pueden inducir al sueño. Los analgésicos pueden ser clasificados en tres grupos principales.

### **OPIÁCEOS**

Tienen un efecto central al inhibir la transmisión nociceptiva a diferentes niveles del sistema nervioso central. Es probable que mimeticen el sistema endógeno endorfina/enkefalina, una de cuyas funciones podría ser un mecanismo intrínseco de control del dolor. Aparte de su actividad analgésica, los opiáceos tienen otros efectos, algunos de los cuales no son deseables; por ejemplo vómitos en ciertos animales, disminución de la actividad intestinal que provoca estreñimiento y depresión respiratoria fundamentalmente en los primates.

Ejemplos de opiáceos son la morfina y sus derivados, petidina, metadona, fentanil, pentazocina, butorfanol y buprenorfina. De todos ellos, la buprenorfina ha despertado especial interés en el control del dolor en animales de laboratorio porque su efecto es aparentemente el de mayor duración. Dado que, de momento, no es una droga controlada en el Reino Unido bajo la *Misuse of Drugs Act, 1971* [Ley del mal uso de los fármacos], está más disponible para ser utilizada en el laboratorio.

Todos los agentes analgésicos han sido desarrollados y probados en animales, por lo que se puede obtener información acerca de su uso en el control de los niveles variables y no predecibles de dolor en circunstancias experimentales. Las dosificaciones recomendadas se ofrecen en textos estándares (GREEN, 1982; FLECKNELL, 1987). En general es necesario cuantificar la dosis según el nivel de cada dolor y luego contar con algunas variaciones en los efectos que surte según los animales. En ocasiones es también más efectivo administrar una dosis preventiva de analgésico antes de que comience el dolor y no una vez que éste se haya producido.

Los efectos secundarios de los opiáceos dependen de la dosis, pero parecen ser menos severos cuando el animal está sufriendo; por ejemplo, una dosis de morfina que controle el dolor en un animal y no produzca depresión respiratoria podría, en otro animal que no padeciera dolor, tener efectos significativos sobre la respiración.

En especies tales como el gato o el caballo, una excitación intensa puede haber sido provocada por una sobredosis de opiáceos.

Hay una razón de fuerza para la administración de analgésicos opiáceos para controlar el dolor en animales protegidos. Puesto que no es posible basarse en una dosis preestablecida de analgésico para toda ocasión, el científico debe habituarse a buscar información documentada o pedirla a los fabricantes o ambas cosas, y solicitar consejo a los colegas que tienen experiencia en la medicación que está utilizando. Sería un error asumir que se ha cumplido una obligación sólo porque se ha administrado un analgésico. El comportamiento del animal debe ser observado durante y después del experimento para asegurarse de que el tratamiento ha sido efectivo y el dolor controlado.

## **FÁRMACOS ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDEOS (NSAID)**

Actúan periféricamente al inhibir la síntesis de prostaglandinas que puedan incrementar la frecuencia de impulsos generados en las terminales nociceptivas. Son particularmente eficaces en casos de dolencias crónicas asociadas con inflamación. Los ejemplos de estos fármacos son: aspirina, fenilbutazona, indometacina e ibuprofeno. Tienen efectos analgésicos específicos, así como los de ser antiinflamatorios, y controlan asimismo la pirexia. Provocan sin embargo efectos secundarios, que son más o menos severos en función de los agentes y de las especies, por ejemplo irritación gastrointestinal, incluso hemorragia y ulceración, e interferencia con la eritropoyesis, causante de anemia y, ocasionalmente, daños en el hígado y el riñón. Los NSAID no son fármacos controlados.

## **ANALGÉSICOS LOCALES**

Bloquean la conducción de dolor a lo largo del tronco nervioso por medio de acción anestésica local. Puede lograrse bien por una infiltración general en el área de dolor o bien, si anatómicamente es posible, por un bloqueo específico del nervio que afecta al foco doloroso del área de operación, o por ambos. La lignocaína es un analgésico local de uso común que controla el dolor hasta unas dos horas. La bupivacaína es más duradera y puede ser eficazmente utilizada para controlar el dolor infiltrándola a lo largo de los bordes de la herida tras el cierre quirúrgico de las incisiones. Los analgésicos locales (como la ametocaína) se utilizan también en gotas para los ojos o en pulverización para las mucosas.

La infiltración subcutánea es una forma eficaz de insensibilizar la piel antes de insertar agujas o cánulas, o para practicar una incisión y un implante.

Los bloqueos regionales de nervios pueden ser utilizados para prevenir o controlar el dolor en un apéndice, zonas de la cabeza o, más eficazmente, la pared pectoral o abdominal por medio de un bloqueo intercostal o paravertebral. Con un adecuado conocimiento anatómico, los bloqueos regionales de nervios no presentan dificultad, pero antes de aplicar la técnica los científicos deberían leer un manual adecuado (por ejemplo, HALL & CLARKE, 1983) y recabar consejo de alguien con experiencia en el método.

## **ANESTESIA**

### **PRINCIPIOS GENERALES**

Los agentes anestésicos son sustancias que provocan de forma controlable y reversible la pérdida de consciencia y la ausencia de respuesta motriz a los estímulos nocivos. Los anestésicos deben ser administrados de tal forma que se minimice la excitación o la perturbación al aplicarlos, y mantener un nivel estable de anestesia suficiente para el procedimiento, pero evitando una depresión profunda, y, cuando se pretenda que el animal se recupere, asegurar que dicha recuperación sea suave y tranquila. Tan sólo se requiere una técnica simple y relativamente sencilla para administrar agentes anestésicos corrientes (tales como éter, barbitúricos, cloralosa o uretano) a los animales de laboratorio en experimentos de los que no está previsto que se recuperen. Sin embargo, con el éter existe peligro de fuego o explosión, y el uretano es un conocido cancerígeno. De otra parte, se requiere un alto nivel de capacitación profesional para administrar un analgésico equilibrado, cuando sea necesario mantener intubado al animal para la práctica de la respiración y circulación asistidas, y evitar cambios psicológicos y metabólicos graves y, cualquiera que sea el grado

de trauma quirúrgico, asegurar una recuperación sin dolor. Tal destreza puede ser difícil de adquirir, incluso en la práctica anestésica con seres humanos. A pesar de lo cual debe ser el objetivo a lograr en la práctica de anestesia en animales de laboratorio.

La administración de un anestésico no debiera causar una molestia mayor de la que se produciría si no se utilizase.

Hay disponibles diversos agentes y técnicas de anestesia. Los científicos deben remitirse a la bibliografía y pedir consejo a aquellos con experiencia acerca del método propuesto de administración, que debe ser humanitario y seguro para el animal, seguro para el operador y asequible a su destreza. Debe tenerse la precaución de seleccionar una técnica de anestesia que no interfiera con la parte del cuerpo que se esté estudiando o con la respuesta del animal al experimento. Hay que entender las acciones e interacciones a corto y largo plazo de los compuestos utilizados durante la anestesia por si influyen en los objetivos del estudio.

### **ANESTESIA EQUILBRADA**

La anestesia equilibrada es una aproximación establecida a la anestesia general, ya que una dosis de un único compuesto difícilmente provocará los tres componentes esenciales: **narcosis** (inconsciencia), **analgesia** (control del dolor) y **relajación de los músculos esqueléticos** con el equilibrio adecuado y sin efectos secundarios en los sistemas cardiovascular y respiratorio.

No siempre pueden ser necesarios los tres componentes. Los animales son anestesiados muchas veces simplemente para inmovilizarlos durante un procedimiento no doloroso. La relajación muscular puede no ser esencial o deseable en todas las ocasiones. Algunos procedimientos se pueden realizar en un animal consciente utilizando una técnica de anestesia local. Un sólo anestésico puede provocar los tres componentes de narcosis, analgesia y relajación muscular, pero sólo a costa de un nivel de depresión central que puede abolir los reflejos protectores y prolongar considerablemente el periodo de recuperación.

### **PREPARACIÓN PREANESTÉSICA**

Siempre deberá permitirse al animal adaptarse a su entorno y, si es posible, acostumbrarle a ser manejado. En ese caso son menos probables la tensión y la perturbación en el momento de la inducción anestésica. La tensión y la perturbación innecesarias incrementarán los peligros de la anestesia. Los animales deberán ser examinados en busca de síntomas de cualquier enfermedad que les ponga en peligro de sucumbir a la anestesia. Los pequeños roedores y

conejos en particular deben proceder en colonias que se sabe están libres de enfermedades.

Es práctica común con ciertas especies retirarles durante algún tiempo la comida, y a veces incluso el agua, para reducir el riesgo de vómitos y una posible aspiración durante la inducción y la recuperación. El tiempo de privación variará de acuerdo con el tamaño y la actividad metabólica de las especies, pero como norma general, será más corto en los animales pequeños y, en cualquier caso, deberá reducirse al mínimo necesario. A menos que esté específicamente contraindicado, debe suministrarse agua para mantener un razonable nivel de hidratación. Hay que tener especial cuidado cuando se preparen rumiantes para la anestesia y los operadores menos experimentados siempre debieran buscar el consejo de los que tienen más experiencia.

### **MEDICACIÓN PREANESTÉSICA**

Puede ser necesaria la medicación antes de la anestesia para calmar al animal y que no muestre una excitación excesiva. La medicación preanestésica debiera tener como objetivo controlar el miedo y la excitación por medio de sedantes y reducir el tono parasimpático mediante agentes como la atropina. La atropina debiera utilizarse de forma selectiva como agente desecante cuando pueda producirse una salivación excesiva o para controlar el nervio vago, pero no debe ser administrada de forma rutinaria.

Se pueden administrar analgésicos potentes antes de la anestesia, cuando un animal ya esté sufriendo dolores o vaya a ser sometido a un procedimiento doloroso. El control previo del dolor en tales circunstancias suavizará el curso de la anestesia y significará que la depresión central se alcanzará más fácilmente con una dosis menor de agente anestésico.

### **NEUROLEPTANALGESIA (NLA)**

Esta técnica utiliza una combinación de agente neuroléptico (ataráxico/tranquilizante) y un analgésico potente, usualmente de tipo opiáceo, para provocar un estado de sedación entre moderado y profundo y relativamente libre de dolor. Dependiendo de las circunstancias, la NLA puede ser utilizada para preparar a un animal para posterior anestesia o, en dosis más altas, inducir un estado similar al de la anestesia quirúrgica total.

Se pueden utilizar muchas combinaciones de neurolépticos y analgésicos y se aconseja a los científicos acudir a los tablas de dosificación estándares para las diferentes especies (GREEN, 1982; FLECKNELL, 1987).

Los efectos de un analgésico opiáceo componente de la NLA pueden ser contrarrestados por antagonistas específicos, tales como la naloxona; pero es de advertir que a medida que se reducen los efectos secundarios la actividad analgésica queda reducida también.

## INDUCCIÓN A LA ANESTESIA

El objetivo principal de la inducción de anestesia es hacer que el animal pase de un período preanestésico tranquilo y relajado al estado de inconsciencia con el mínimo malestar e incomodidad. Lo cual no significa necesariamente que la velocidad sea esencial, es decir que el animal que se queda tranquilamente inconsciente algún tiempo después de una simple inyección puede no exhibir síntomas de malestar.

Existen dos sistemas de inducción a la anestesia habitualmente utilizados: inyección de sustancias anestésicas e inhalación de gases y/o vapores. Rara vez es necesario utilizar otros métodos.

### Anestésicos inyectables

Generalmente es preferible una vía de administración **intravenosa** porque permite la cuantificación de la dosis que ejerce el efecto deseado. Si el tamaño del animal o la ausencia de venas superficiales adecuadas impiden el uso de esta vía, las inyecciones pueden suministrarse darse **intraperitoneal, intramuscular o subcutáneamente**, con una velocidad decreciente en los efectos debido a la menor tasa de absorción. Mientras que la dosis intravenosa puede ser ajustada al efecto buscado, por las restantes vías se debe administrar una dosis única calculada según el peso corporal, con la desventaja de que existen variaciones individuales de respuesta y variaciones en la velocidad de absorción. Por esta razón se utilizan agentes anestésicos con un amplio margen de seguridad. Además de la seguridad y la eficacia, es crítico el volumen de inyección necesario para administrar la dosis del compuesto anestésico; por ejemplo, en pequeños roedores la inyección intramuscular, de un volumen grande en relación con su masa muscular, no sólo puede provocar dolor sino reducir la absorción del agente e interferir con los resultados del experimento.

La estructura del grupo muscular puede afectar asimismo a la absorción del anestésico. En el gato, por ejemplo, los músculos caudales del muslo están separados por amplios espacios intermusculares que hacen difícil administrar una inyección totalmente intramuscular en ese punto. El uso del grupo de músculos cuádriceps de la cabeza del fémur es mucho más seguro y acarrea menos riesgo de dañar nervios importantes, como el ciático.

Para venas pequeñas son útiles las agujas “mariposa”, finas, porque los tubos plásticos permiten una gran flexibilidad entre la jeringuilla y el animal. Las agujas finas se bloquean fácilmente y pueden dañar las venas cuando se mueve al animal. Las cánulas plásticas y catéteres largos de plástico se utilizan para mantener un acceso seguro, a fin de administrar dosis mayores de anestésicos o infusiones.

Existe una gran variedad de respuesta en las distintas especies y razas, por lo que se aconseja consultar a colegas experimentados así como las tablas de anestésicos estándares en relación a la elección de los mismos. La selección dependerá en gran parte del propósito para el que se usa, pero el principio inexcusable es que debe ser humanitario y seguro para el animal. Los investigadores deberían evitar compuestos que puedan causar dolor a ser inyectados o que necesiten de un prolongado periodo de inducción. Los tiobarbitúricos son irritantes debido a su elevado pH y deben ser administrados únicamente por vía intravenosa y con mucho cuidado. Deben ser diluidos a más baja concentración para permitir un mayor control sobre la cantidad a administrar y reducir el daño si el material se filtra a los tejidos perivasculares. Cuando el anestésico principal requiere una larga fase de inducción, se puede utilizar previamente otro anestésico que actúe rápidamente.

### Anestésicos de inhalación

Pueden ser tanto líquidos volátiles que deben ser vaporizados (por ejemplo halotano, metoxiflurano y éter), como gases inyectados a presión en botellas (por ejemplo óxido de nitrógeno y ciclopropano). Es mejor evitar el éter en operaciones de prolongada recuperación debido a los desagradables efectos posteriores y al mayor riesgo de infección pulmonar. Una ventaja de las técnicas de inhalación de anestésicos es que se puede conseguir un mayor control de los efectos. Los anestésicos son asimilados por el lecho vascular pulmonar hasta afectar al cerebro; y pueden ser eliminados por la misma vía siguiendo una gradación de concentración. En lo que a los agentes de inhalación se refiere, la redistribución en el organismo y la degradación metabólica del principio activo son mucho menos importantes que para los agentes inyectables.

La anestesia gaseosa puede ser inducida bien a través de una cámara que contenga el vapor de una sustancia volátil que se ha colocado en un recipiente de material absorbente, o haciendo que el animal respire, a través de una máscara facial, aire que le es insuflado a través de un recipiente con anestésico volátil. La ventaja que significa la simplicidad de administración queda contrarrestada por la desventaja de que la concentración de anestésico no puede ser controlada. Además, es esencial que no haya contacto directo entre el animal y el anestésico volátil, pues éste puede ser irritante. Tales métodos sólo se recomiendan para

breves periodos de anestesia con agentes que poseen un amplio margen de seguridad, tales como el metoxiflurano.

La anestesia por inhalación controlada puede lograrse preparando la mezcla adecuada de gases y vapores mediante un aparato de anestesia. Esta puede mezclar los gases a través de **medidores de flujo**, añadir oxígeno para suplementar el existente en el aire atmosférico y vaporizar un anestésico volátil en una concentración dada. La mezcla de gases anestésicos y vapores es administrada entonces a través de un sistema de suministro compatible con las características respiratorias del animal.

El sistema de suministro puede ser tan simple como una caja de plexiglás provista de válvulas de admisión y expulsión, o tan complejo como un ventilador controlado electrónicamente capaz de producir una amplia gama de ritmos respiratorios adecuados a las diferentes especies.

### Peligros potenciales

Los investigadores no deben usar equipos de anestesia a menos que hayan sido especialmente capacitados y sepan cómo deben ser utilizados de manera eficaz y segura para el animal en cuestión. Existen riesgos potenciales para el personal operador que utilice agentes inhalantes ya que se pueden producir mezclas inflamables o explosivas, y deben tomarse precauciones para evitar que se produzcan chispas y llamas en la zona donde se utilicen. Hay asimismo peligro de polucionar los quirófanos con los gases y vapores anestésicos de desecho. Debe instalarse en el área donde hay gente trabajando, un sistema eficaz de extracción para retirar los agentes de inhalación.

### MANTENIMIENTO DE LA ANESTESIA

El principio del mantenimiento de la anestesia es asegurar que el animal está inconsciente en un grado de profundidad adecuado para el estudio que se pretenda realizar. La anestesia deberá mantenerse durante cualquier interferencia operatoria de modo que el animal no responda a estímulos dolorosos. Un nivel ligero de anestesia es muchas veces todo lo que se requiere para mantener la inconsciencia en estudios que no causan dolor en sí mismos; por ejemplo mediciones fisiológicas o la exposición a radiación ionizante.

Otro objetivo importante debe ser el mantener, tanto como sea posible, todos los sistemas orgánicos vitales y los mecanismos homeostáticos. Debe asegurarse una buena vía de aire y cuando sea necesario se debe instaurar la ventilación pulmonar y la circulación asistidas. La mayor parte de los anestésicos no sólo producen inconsciencia sino que son depresores respiratorios, miocárdicos y circulatorios dependien-

do de la dosis. La exposición prolongada a altas concentraciones de anestésicos provocará graves distorsiones de los mecanismos de control homeostático. Hay que prestar atención especial al mantenimiento de la temperatura corporal, particularmente en los animales pequeños, en los que un descenso vertiginoso de la temperatura corporal es una de las primeras consecuencias de la anestesia general.

El sistema de anestesia ha de ser diseñado para resolver cuestiones especiales de la operación, como mantener al animal quieto en una posición inusual, relajar e inmovilizar la musculatura esquelética o mantener al animal durante un determinado periodo de apnea. Los animales requieren un alto nivel de atención durante el curso de una anestesia, incluyendo el periodo de recuperación. Para todo lo que no sean intervenciones menores, es aconsejable tener a alguien que se ocupe de la anestesia y que controle los progresos del animal. No es posible concentrarse en un intrincado proceso de cirugía y controlar la anestesia al mismo tiempo. Los animales anestesiados no deben dejarse desatendidos bajo ninguna circunstancia.

#### **VALORACIÓN DE LA PROFUNDIDAD DE LA ANESTESIA**

Existen criterios empíricos para la valoración de la profundidad de la anestesia. Deberán utilizarse estímulos apropiados para juzgar la profundidad de la depresión central que permitirá una interferencia quirúrgica. Algunos ejemplos son: la penetración profunda de una aguja en el lugar de la incisión para provocar una respuesta visible, el pellizcar el espacio interdigital para producir la retirada de la pata, o el tocar los párpados y las pestañas para observar un parpadeo. Si un animal muestra un enérgico movimiento al llevar a cabo cualquier proceder quirúrgico, la operación deberá detenerse y ajustar la anestesia a la profundidad que permita continuar sin ninguna respuesta por parte del animal.

Para mantener un nivel constante de anestesia, se debe controlar la frecuencia cardíaca y a ser posible la presión arterial. Cuando la musculatura esquelética ha sido paralizada por un bloqueante neuromuscular, este control se hace esencial. Un aumento del latido cardíaco o de la presión arterial como respuesta a un estímulo indica la necesidad de suministrar más anestésico.

Algunos anestésicos, como los combinados de neurolépticos y analgésicos o la cloralosa, permiten a algunos animales a permanecer sensibles al ruido. Un golpe seco en la mesa puede despertar al animal y esto indica que debe profundizarse aun más la anestesia. Esto indica también que deben evitarse los ruidos fuertes o repentinos en el área en que se están anestesiando animales.

#### **BLOQUEANTES NEUROMUSCULARES**

Los agentes despolarizantes como el suxametonio y los antidespolarizantes como el curare, la gallamina y el pancuronium, se utilizan en anestesia clínica para

paralizar la musculatura esquelética, es decir produciendo un nivel profundo de relajación.

Estos agentes no producen inconsciencia. Si se administran a un animal que no esté anestesiado o que esté incorrectamente anestesiado, éste no sólo tendrá problemas para respirar, sino que también será consciente de cualquier proceso doloroso al que ese le someta y de su impotencia por estar paralizado.

Debe obtenerse un permiso específico del *Home Office* [Ministerio del Interior] antes de utilizar bloqueantes neuromusculares para experimentación con animales vivos. El *Home Office* ha publicado una guía (HOME OFFICE, 1988) para el uso de estos agentes, pero en caso de duda se recomienda consultar con el inspector del *Home Office*.

## **CUIDADOS POSTANESTÉSICOS**

Son muy necesarios los cuidados postoperatorios para asegurar el bienestar del animal, cuando se pretende que éste se recupere de la anestesia. No debe cesar la atención al animal cuando termine el proceder quirúrgico. El animal anestesiado necesita una estrecha supervisión hasta que recobre la consciencia y sea capaz de valerse por sí mismo. Normalmente se considera que eso ocurre cuando se da cuenta de las características de su entorno; cuando puede tragar y está protegida su tráquea; cuando respira normalmente y tiene la circulación adecuada, y su temperatura está recobrando la normalidad.

Es preferible reservar un área especial para la recuperación, de forma que el animal pueda ser observado en un entorno tranquilo y cálido, y con iluminación tenue. Para la cama deben utilizarse materiales secos y absorbentes, y no serrín o cualquier otro material que pueda adherírsele a los ojos, nariz o boca durante la recuperación.

El animal debe ser examinado a intervalos regulares y se debe mantener un registro de sus progresos. Si se ha utilizado un tubo endotraqueal debe mantenerse hasta que el animal recupere los reflejos faríngeos. Hay que administrarle líquidos para evitar la deshidratación, pero el animal estará incómodo si tiene la vejiga repleta, de modo que habrá que sondarle.

Debe evitarse una recuperación prolongada de la anestesia, pero esto no significa necesariamente que el objetivo deba ser que el animal esté plenamente activo tan pronto como sea posible tras la operación. Debe tenerse gran cuidado en controlar el dolor durante el periodo de recuperación y ello puede lograrse mediante:

- el uso de una técnica de anestesia adecuadamente refinada;
- cumplimiento de los mejores principios de la cirugía durante el procedimiento;
- provisión de un entorno agradable durante la recuperación;
- uso juicioso de los analgésicos y sedantes adecuados.

Idealmente, el animal debería recuperar la consciencia y sus reflejos protectores, mostrarse receptivo pero relajado, tranquilo y sin síntomas de dolor. Un animal en esas condiciones se mostrará cálido al tacto, deseoso de beber líquidos y, cuando sea apropiado, responderá a nuestra llamada.

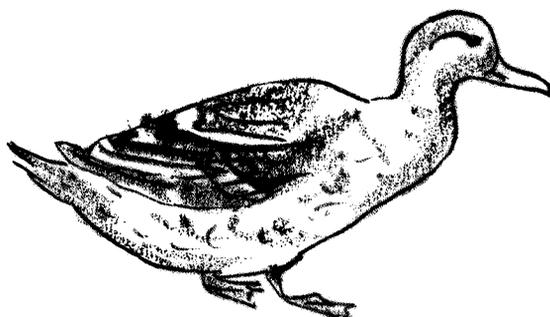
## CONCLUSIÓN

En la Ley de 1986 subyace el principio de que los animales utilizados con fines científicos debieran ser cuidados de acuerdo con las mejores normas de la cría moderna de animales, y que los efectos del dolor, el sufrimiento, las molestias o los daños duraderos sean controlados mediante los métodos analgésicos y anestésicos más adecuados.

Estas recomendaciones cubren tan sólo los principios más generales y las dosis específicas para cada especie debieran ser consultadas en las tablas clásicas. Sin embargo, desde el punto de vista del animal, el cuidado y la atención que el personal le dedica antes y después de la operación o experimento, serán seguramente los factores más importantes a la hora de minimizar el dolor o el sufrimiento.

El conocimiento de los efectos de los procederes quirúrgicos y de la eficacia de diversos analgésicos y anestésicos está en continuo crecimiento y es importante que esta información se de a conocer. Los fabricantes siempre están dispuestos a ofrecer detalles sobre sus productos; los investigadores experimentados, sus asistentes y los veterinarios responsables del cuidado diario de los animales debieran ser animados a transmitir sus conocimientos y, en caso necesario, buscar el consejo de los inspectores del *Home Office* [Ministerio del Interior]. Corresponde a todos aquellos relacionados con el cuidado y uso de animales de laboratorio mantenerse plenamente informados de los avances que puedan mejorar su habilidad para reconocer los síntomas de dolor en un animal, minimizar éste mediante el uso de medidas preventivas y controlarlo con el uso de agentes analgésicos y anestésicos eficaces. Es de esperar que este capítulo ayude a conseguirlo.

#### 4. PROCEDIMIENTOS QUIRÚRGICOS



## 4. PROCEDIMIENTOS QUIRÚRGICOS

### CONCEPTOS GENERALES

Este capítulo ofrece consejos acerca de la planificación, preparación y ejecución de procedimientos relacionados con la cirugía. La cirugía es muchas veces necesaria para extraer o tratar órganos en un animal experimental a fin de estudiar su función en el conjunto del organismo. El animal puede permanecer bajo anestesia hasta el final o permitírsele que recobre el conocimiento para que el estudio pueda ser completado. La cirugía se utiliza también para implantar aparatos que toman muestras de líquidos corporales, administran fármacos y registran cambios en la presión o la circulación. Muchos de los estudios que se llevan a cabo tienen como fin desarrollar técnicas que pueden salvar vidas o mejorar la calidad de la misma, tanto en medicina humana como en veterinaria.

La autorización para utilizar animales en experimentos conlleva responsabilidades. El cirujano precisa destreza técnica y conocimiento de la anatomía y la fisiología del animal. La persona autorizada para usar animales debe ser consciente en todo momento de sus necesidades. Dichas necesidades pueden ser limitadas o pueden requerir una estrecha y aun continua atención y ayuda a lo largo de un periodo prolongado.

La *Animals (Scientific Procedures) Act, 1986* [Ley de los animales (procederes científicos)], exige que el personal autorizado sea técnicamente competente en procedimientos experimentales. Para aquellos que se propongan practicar la cirugía, su adiestramiento debe incluir conocimientos de anatomía y de las necesidades fisiológicas de las especies, de las técnicas anestésicas y quirúrgicas adecuadas, de los requisitos de cuidados postoperatorios y de las posibles consecuencias de la intervención quirúrgica (CANADIAN COUNCIL ON ANIMAL CARE, 1980, 1984; FOSTER et al., 1983; KAPLAN & TIMMONS, 1979; KIRK, 1978; LANE, 1980; SWINDLE, 1983; UFAW, 1987). Debe ser consciente asimismo de las posibles fuentes del dolor quirúrgico y postoperatorio (AVTRW, 1989; HOLDEN & WINLOW, 1984; KITCHELL & ERICKSON, 1983) y ser capaz de reconocer los síntomas de dolor

a fin de tomar las medidas adecuadas y solicitar consejo cuando sea necesario.

El uso de animales vivos para hacer prácticas de cirugía está prohibido por la Ley de 1986 excepto para el aprendizaje de técnicas especializadas de microcirugía de aquellos que vayan a practicar ésta clínicamente. Sin embargo se pueden hacer prácticas ayudando a investigadores experimentados y adquirir destreza practicando en animales recién muertos, particularmente en la manipulación de tejidos y la adquisición de soltura en el manejo de instrumentos y en métodos de sutura.

## **PLANIFICACIÓN**

### **GENERALIDADES**

La cirugía experimental siempre debe ser planificada. Ello ayuda al investigador a sentirse tranquilo, actuar con confianza y estar preparado para lo imprevisto. Una lista útil para personal autorizado y técnico debiera incluir:

1. Elección, disponibilidad y estado sanitario del animal.
2. Reserva de dependencias preoperatorias, quirúrgicas y postoperatorias.
3. Definición del estándar de asepsia requerido.
4. Selección y preparación de los instrumentos y aparatos necesarios.
5. Selección del anestésico, analgésico u otros fármacos requeridos.
6. Provisión de materiales para recuperación de emergencia, incluyendo líquidos de infusión y goteo.
7. Determinación y selección de los ayudantes requeridos.
8. Preparación del animal para la operación.
9. Protocolo del proceder quirúrgico.
10. Cuidados postoperatorios del animal.

Es importante escoger el momento propicio; una operación a última hora de la tarde o a finales de semana requerirá la provisión de un turno de noche o una guardia durante el fin de semana para asegurar la atención adecuada durante la recuperación. La persona autorizada debe seleccionar el lugar adecuado para la incisión y la mejor postura del animal para la operación, lo cual puede ser relativamente sencillo en pequeños roedores de laboratorio. Los animales más grandes pueden requerir un apoyo de las partes relevantes del cuerpo que dan acceso al lugar de la incisión y para evitar presión sobre nervios periféricos y vasos sanguíneos.

La presión sobre los antebrazos puede provocar parálisis del nervio radial y la tensión o el estiramiento de la región pélvica y cuartos traseros puede provocar la parálisis de los nervios obturadores. El apoyo correcto del cuerpo del animal durante la operación mediante dispositivos acolchados que lo aten

a la mesa de operaciones, junto con la ausencia de presiones externas sobre el animal reducirán el riesgo de parálisis no deseadas asociadas a la operación.

Los conocimientos de anatomía son esenciales, especialmente para la inserción y exteriorización de catéteres y cánulas. Siempre que sea posible, deberán mantenerse los órganos en su posición anatómica normal. Por ejemplo, la exteriorización de una cánula gástrica por el costado derecho de una rata mantiene el estómago en su posición normal. Sin embargo, las cánulas de reentrada del duodeno de la oveja se exteriorizan mejor en el plano horizontal, a mitad del flanco, para prevenir el desplazamiento al sentarse. Unas guardas o vendas protectoras pueden evitar que el animal se dañe a sí mismo.

## EVITAR LA INFECCIÓN

Es esencial prevenir la infección evitando la contaminación de la herida quirúrgica (DOUGLAS, 1963; PEACOCK & VAN WINKLE, 1970). Puede que no sea posible evitar cierta contaminación microbiana, pero debieran tomarse medidas para interrumpir las rutas de acceso de la infección. Los términos utilizados para definir cómo se puede limitar la infección microbiana son los siguientes: **limpieza** es la ausencia de suciedad; **desinfección** implica la destrucción de patógenos por medios químicos; **esterilización** es la destrucción de microorganismos vivos incluyendo esporas de bacterias; **antisepsia** es la aplicación en tejidos vivos de desinfectantes no tóxicos; **asepsia** es la ausencia de organismos patógenos vivos. Aunque el objetivo debe ser evitar la infección, los métodos de conseguirlo difieren según las especies y el tipo de cirugía.

## QUIRÓFANOS

En el Reino Unido los procedimientos quirúrgicos experimentales sólo pueden ser llevados a cabo en determinadas habitaciones o áreas de acuerdo con la Ley de 1986. Las técnicas **asépticas** pueden ser aplicadas mejor en dependencias especialmente diseñadas y equipadas. La complejidad del diseño depende del número y tipo de especies que vayan a utilizarse. Para las operaciones complicadas y en animales grandes el diseño es de la mayor importancia. El quirófano debe tener las paredes y techos pulidos, y los suelos impermeabilizados. Debe estar adecuadamente ventilada con el flujo de aire filtrado que vaya desde el área limpia hacia una menos limpia. El sistema de calefacción debe mantener una temperatura ambiente agradable. La luz natural no es esencial, pero debiera disponerse de un sistema portátil de luz fría o luces especiales de quirófano. La iluminación artificial y los accesorios eléctricos deben ser a prueba de chispas si son utilizados agentes anestésicos voláticos explosivos. El sistema de iluminación

debe ser hermético para permitir su limpieza con agua y la exposición a vapores de esterilización, tales como el formaldehído o la iodina. Puede ser necesario instalar un sistema especial de escape y expulsión para eliminar el exceso de anestésicos que pudieran ser acumulativamente peligrosos para el personal del quirófano. El vestuario debe estar cerca del quirófano. En el quirófano o cerca de éste debiera haber instalaciones para lavarse provistas de grifos accionados con el pie o el codo y espacio para almacenar batas y guantes estériles. Para animales grandes es esencial una habitación para anestesia y preparación adyacente a la puerta del quirófano, y puede ser necesario un aparato elevador para colocar al animal en la mesa de operaciones. Las salas de operaciones deben mantenerse limpias quitando el polvo y los restos orgánicos de todas las superficies. En esas salas debe guardarse el menor número de aparatos experimentales posible.

## **INSTRUMENTAL Y ESTERILIZACIÓN**

Tijeras, escalpelos y agujas de sutura deben mantenerse afilados y todos los instrumentos quirúrgicos debieran estar listos para su uso en cualquier momento (ANDERSON & ROMFH, 1980). El instrumental puede esterilizarse por irradiación, corriente en el autoclave, aire caliente u óxido de etileno gaseoso, utilizando bandejas, tambores, cajas o envolturas protectoras, previamente preparadas. La esterilización con agua hirviendo (100°C) durante un mínimo de 10 minutos en un banco de esterilización es tan aceptable como la esterilización en frío durante un tiempo similar en soluciones acuosas de desinfectantes tales como clorhexidina al 0,5% ó de alcohol etílico o propílico al 70%. Las esporas bacterianas no se destruyen con la esterilización fría y son un foco potencial de infección. Cuando no se utilicen los instrumentos quirúrgicos pueden ser protegidos con una capa de aceite. Los aparatos anestésicos y respiratorios deberán ser cuidados y comprobados regularmente para asegurarse de su correcto funcionamiento (WARD, 1975). De la misma forma, el equipo para diatermia y laparoscopia debiera estar adecuadamente mantenido (HARRISON & WILDT, 1980; MITCHELL & LUMB, 1966).

## **PRELIMINARES**

### **SELECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DEL ANIMAL**

Deben seleccionarse para las operaciones los animales más adecuados. Por ejemplo, los animales inmaduros pueden crecer demasiado para las cánulas y los catéteres y por lo tanto no ser adecuados; o un macho adulto puede volverse inmanejable y limitar o impedir las observaciones que deban hacerse. Para cada animal se debe disponer una ficha quirúrgica. La información registrada debiera

incluir especie, raza, color y el método utilizado para identificarlo, el peso corporal, sexo y edad y procedencia. Asimismo debieran añadirse los resultados de los exámenes clínicos, los detalles de la anestesia, operación, cuidados postoperatorios y del examen postmortem si procede. Los fármacos y demás tratamientos empleados deben añadirse también. Una ficha quirúrgica individual permite manejar mejor a un animal y permite recordar los detalles precisos del estado realizado.

## **ACLIMATACIÓN Y ACONDICIONAMIENTO DEL ANIMAL**

Los animales que son trasladados bien en el interior o a otro establecimiento pueden sufrir un estrés fisiológico, dependiendo de las especies y de la duración del traslado. Por lo tanto, antes de una operación debiera permitírseles aclimatarse al nuevo entorno y a los cambios de comida y del personal encargado de su cuidado. En general, los animales necesitan de dos a tres semanas para la adaptación y la aclimatación dependiendo de las especies. Los ruminantes pueden necesitar al menos tres semanas para que la fauna protozoaria y bacteriana de los reservorios ruminales se ajuste a los cambios de dieta. En el caso de los primates pueden ser necesarias varias semanas o meses, dependiendo de las circunstancias y de las fuentes de adquisición.

Para algunos procederes, por ejemplo cuando sea necesaria la inmovilización o cuando se precise un animal dócil, puede ser ventajoso un periodo de acondicionamiento. A través del entrenamiento el animal aprende lo que puede esperar y probablemente se muestre más tranquilo y capaz de soportar una incomodidad. Además, familiarizar al animal con un procedimiento reduce considerablemente los cambios fisiológicos (por ejemplo los niveles de hormonas y otras variables) asociados en muchos casos con el estrés (ver CONALTY, 1967 y GÄRTNER et al., 1980).

## **EXAMEN CLÍNICO**

La salud de los animales debiera ser revisada por un veterinario u otra persona competente. La profundidad de la revisión dependerá tanto del origen y procedencia del animal, por ejemplo si es salvaje o ha sido criado en cautividad, como de los requisitos del proyecto. En animales pequeños puede ser suficiente una apariencia saludable (por ejemplo ausencia de síntomas clínicos de enfermedades respiratorias o diarreas). Pero es aconsejable en el caso de animales más grandes (por ejemplo gatos y perros) efectuar un examen clínico completo, incluyendo análisis de orina y sangre (BLEICHER, 1965; WARREN, 1983) y un examen de heces para detectar posibles parásitos gastrointestinales. El técnico

en animales debe estar siempre implicado durante todas las fases de los procesos pre y postoperatorios.

## **PREPARATIVOS PREOPERATORIOS**

Es corriente en el caso de determinadas especies retirar los alimentos y a veces el agua durante un tiempo previo a la operación para reducir la posibilidad de vómitos y una posible aspiración en el momento de serles inducida la anestesia y durante la recuperación. La cirugía gastrointestinal puede requerir un estómago vacío o cantidades reducidas de ingesta en el intestino; el ayuno durante una noche suele ser suficiente. Los reservorios gástricos de los rumiantes herbívoros no se vacía de manera natural con el ayuno, pero la distensión causada por el volumen de ingesta y la fermentación microbiana de los contenidos se reducen mediante un ayuno de 24 horas.

El uso de premedicación depende de las especies, de la anestesia y de la operación que vaya a ser practicada (FLECKNELL, 1987). A los animales excitables les beneficia un tranquilizante pero éste puede deprimir el control de la temperatura corporal y sólo debiera utilizarse en lugares con temperatura controlada.

## **PREPARACIÓN Y EJECUCIÓN DE LA OPERACIÓN**

### **ANESTESIA**

Hay disponibles varias técnicas de anestesia pero todo depende de la respuesta farmacológica efectiva de cada animal en particular al fármaco o combinación de ellos utilizados para sedar, inmovilizar o anestesiar (ver también Anestesia en el capítulo 3, página 76; asimismo ver FLECKNELL, 1987; GREEN, 1979; HALL & CLARKE, 1983; WARREN, 1983). Se dan diferencias en la respuesta a los anestésicos según las especies y según los individuos dentro de cada especie, y algunos de ellos están contraindicados en ciertos estados fisiológicos como la gestación.

Para las operaciones largas y complicadas es preferible la anestesia total. Cuando se utiliza intubación endotraqueal para mantener la inducción de la anestesia, hay que tener cuidado de no dañar las estructuras laríngeas. Debieran utilizarse la anestesia profunda o el aerosol anestésico local para evitar las respuestas reflejas de la laringe a la intubación. Un animal anestesiado es incapaz de mantener su temperatura corporal; mientras que una oveja no esquilada o un cerdo adulto tienen algún tipo de protección contra la pérdida de temperatura gracias a la capa aislante de lana o grasa subcutánea, otros animales deben ser protegidos contra la pérdida de calor con algún tipo de calefacción o con material

aislante mientras estén en la mesa de operaciones (por ejemplo, lámparas de calor, mantas eléctricas controladas por termostato) y hay que tomar precauciones para evitar quemaduras o excesos de temperatura cuando se aplique calor durante la operación y la recuperación.

## **ESTÁNDAR QUIRÚRGICO**

Los principios y prácticas esenciales de la asepsia y las técnicas asépticas se encuentran en todo libro especializado en cirugía (por ejemplo, LEONARD, 1968; MARKOWITZ et al., 1964; TURNER & MCILWRAITH, 1982 o WIND & RICH, 1983). Las rutinas **antisépticas** por sí solas pueden ser suficientes en los procedimientos quirúrgicos menores. Los experimentos sin recuperación pueden ser mejorados también utilizando las mismas rutinas de limpieza.

## **PREPARACIÓN DE LA PIEL**

El pelo debe ser eliminado, pero la piel no debiera quedar magullada o enrojecida. En las especies grandes es usual lavar con detergente la zona en donde se va a operar y enjuagarla y secarla antes de aplicar la solución antiséptica final. Son antisépticos de uso general el alcohol etílico o isopropílico al 70%, clorhexidina al 0,5% en 70% de alcohol, la tintura de yodo y la solución alcohólica de povidona-yodo al 10%. La tintura de mertiolato (Tiomersal B.P. al 0,1% p/v en solución acuosa de alcohol y acetona) puede utilizarse para controlar cualquier infección cutánea por hongos que pudiera poner en peligro la operación, especialmente del feto *in utero*.

## **PREPARACIÓN DEL CIRUJANO**

Las técnicas asépticas requieren una limpieza total de las manos del cirujano y que éste lleve guantes y bata esterilizados. Puede utilizarse asimismo mascarilla, gorro y calzado especial. Los ayudantes deben ir ataviados de forma similar (LANG, 1982; MARKOWITZ, et al., 1964).

## **PREPARACIÓN DEL CAMPO OPERATORIO**

Deben aplicarse paños estériles para aislar la zona de piel donde se vaya a practicar la incisión con vistas a reducir el riesgo de contaminación microbiana. Para operaciones asépticas en ratones, ratas, aves y otros animales pequeños, pueden utilizarse toallas de papel esterilizadas o de plástico adhesivo estéril y practicar la incisión a través de las mismas. En animales más grandes (p. ej.

gatos, perros, ovejas y cabras), para prevenir la contaminación, lo usual es aplicar más paños estériles tras practicar la incisión. En operaciones del sistema gastrointestinal, deben aplicarse paños adicionales (que pueden ser de color rojo), para aislar el área de incisión en el intestino, porque los microorganismos naturales del intestino abierto pueden derramarse y convertirse en patógenos en la cavidad peritoneal o en la herida quirúrgica. La cirugía en animales con un estado microbiano definido, mantenidos en aisladores pueden requerir una operación en aisladores modificados. Es importante tener muy en cuenta que las diferentes especies animales pueden infectarse por diferentes cepas o especies de microorganismos.

### **TÉCNICAS QUIRÚRGICAS**

La cirugía se practica utilizando instrumentos esterilizados. La lesión a los tejidos durante una operación debería reducirse al mínimo (MARKOWITZ et al., 1964; TURNER & McILWRAITH, 1982; WAYNFORTH, 1980, 1987; WIND & RICH, 1983). El daño puede ser provocado tanto al secar, enfriar, sobrecalentar o manipular como por infección microbiana. Los tejidos deben ser manipulados con suavidad y pueden utilizarse paños y algodón estériles húmedos y calientes para reducir el enfriamiento y la sequedad. Debe asimismo mantenerse al mínimo la pérdida de sangre para reducir el shock quirúrgico y prevenir la acumulación de sangre en la herida. Las suturas deben realizarse con firmeza para lograr la hemostasis pero no deben incluir más tejidos que el del vaso implicado. El daño a los tejidos por electrocauterización debiera ser reducido al mínimo para evitar el exceso de tejido necrótico ya que puede convertirse en un foco de infección. El grado de traumatismo tisular altera el nivel de dolor postoperatorio percibido por el animal y la necesidad de tratamiento por medio de sedantes y analgésicos. Retrasa asimismo la cura y la recuperación de la salud normal.

### **CIERRE DE HERIDAS**

El objetivo es juntar los bordes cortados de los tejidos sin restringir su viabilidad (DOUGLAS, 1963; PEACOCK & VAN WINKLE, 1970). Para la sutura interna de vísceras los materiales de sutura enhebrados a agujas antitraumáticas reducen el daño provocado por la inserción de la aguja. La herida debe quedar limpia antes de cerrarla; si los tejidos se han secado deben humedecerse con una solución salina templada y deben retirarse los coágulos de sangre y los tejidos lesionados. Asimismo deben extraerse los algodones, los paños y los instrumentos, y puede ser necesario hacer un recuento de ese material. Ocasionalmente, una herida puede requerir irrigación con una solución salina estéril o antibiótica. La

restauración a su posición original de las capas de tejidos así como de la piel, puede lograrse en algunas incisiones mediante el cierre de los músculos en una capa seguido de la capa subcutánea y de la piel. Los animales tratarán de quitarse las suturas cutáneas, y por lo tanto deben ser discontinuas. Es aconsejable la sutura discontinua o la sutura corta continua de las otras capas. Los animales de laboratorio más grandes requieren el cierre por capas, particularmente en las incisiones abdominales. Los animales de granja requieren suturas de tensión discontinuas para ayudar al cierre de incisiones medioabdominales. Deben evitarse las suturas continuas largas que pueden romperse fácilmente y provocar hernia o la apertura de la herida. Para cerrar la piel pueden utilizarse grapas de metal, preferentemente las que se aplican automáticamente con grapadora. Los animales en periodo postoperatorio aplican normalmente gran presión sobre las suturas, particularmente las del abdomen, por lo que debe ponerse gran cuidado en la elección de los materiales de sutura.

#### **VIGILANCIA Y MANTENIMIENTO DURANTE LA OPERACIÓN**

Deben vigilarse las funciones fisiológicas del animal durante la operación mediante observación clínica utilizando, por ejemplo, un estetoscopio, un termómetro, una linterna de bolsillo o electrocardiogramas y termistors. La temperatura corporal puede ser comprobada de forma continua en todas las especies utilizando un termómetro aplicado al recto, o un termistor y aparatos registradores electrónicos. Cuanto más pequeña sea una especie mayor será la tasa de pérdida de calor. La temperatura corporal puede ser mantenida mediante un uso cuidadoso de lámparas y paños térmicos, botellas de agua caliente, mantas forradas de aluminio o elevando la temperatura ambiente.

El control frecuente o continuo del ritmo respiratorio o de la frecuencia cardíaca puede indicar el nivel de anestesia y los posibles efectos adversos de la operación. Cuando se utiliza un respirador mecánico, la frecuencia cardíaca es el indicador más accesible del estado del animal. Hay disponibles técnicas para medir la presión sanguínea, los gases en la sangre, el pH, el volumen de células sanguíneas y los niveles totales de proteínas plasmáticas. Las alteraciones en el volumen y distribución de la circulación de sangre pueden ser la causa principal del shock quirúrgico, con lo que es muy importante estar atento a la homeostasia para reducir la pérdida de sangre. Las pérdidas graves de sangre pueden ser compensadas mediante transfusión sanguínea, en los roedores con donantes consanguíneos y en todas las especies con donantes compatibles o primerizos. En las operaciones prolongadas deben restituirse los fluidos y electrolitos perdidos por las vías respiratorias, salivares y renales. Es importante mantener el equilibrio de fluidos y electrolitos; en los animales experimentales grandes pueden suministrarse fluidos intravenosos durante la operación. Existen

en el mercado preparados estériles de diferentes soluciones de electrolitos que se pueden utilizar hasta un 4% del peso corporal, cada 24 horas, para ayudar al paciente quirúrgico. Deben tenerse en cuenta las posibles reacciones de una especie a los polímeros tales como el Dextran 70 o la polivinilpirrolidona. Para más detalles, ver HALL (1980) y MUDGE (1985).

Soluciones intravenosas disponibles en envases estériles:

0,9% Cloruro sódico al 0,9%

0,9% Cloruro sódico al 0,9% + glucosa al 5%

0,45% Cloruro sódico al 0,45% + glucosa al 5%

0,18% Cloruro sódico al 0,18% + glucosa al 4%

0,9% Cloruro sódico al 0,9% + cloruro potásico al 0,15%

0,18% Cloruro sódico al 0,18% + cloruro potásico al 0,15% + glucosa al 4%

Solución Ringer (compuesto de cloruro sódico inyectable).

Solución Hartmann (infusión de compuesto de lactato sódico).

Dextrano 70 al 6% en cloruro sódico al 0,9%.

## RECUPERACIÓN

### DEPENDENCIAS Y TRATAMIENTO

Aunque todas las especies deben haber sido sometidas a ayuno antes de la operación, los reservorios gástricos de los rumiantes herbívoros no se vacían de manera natural al ayunar. Por lo tanto debe tenerse especial cuidado en prevenir la regurgitación y la inhalación de material alojado en la faringe durante la recuperación de la anestesia, cuando las funciones de los reflejos de tragar y toser no han recuperado aún su tono. Mantener a los animales en posición esternal, con ayuda si es necesario, normalmente permite que el drenaje dependiente de la faringe mantenga abierto el paso durante la recuperación y facilita la eructación de los gases ruminales y por lo tanto previene el timpanismo del rumen. Debiera aplicarse calor adicional para mantener al mínimo el calor que se continua perdiendo durante la recuperación. La recuperación de operaciones de importancia, especialmente del tracto gastrointestinal, está asociada con diferentes grados de malestar y dolor. Deben suministrarse analgésicos al principio del periodo postoperatorio para aliviar las molestias y relajar la tensión de la musculatura lisa gastrointestinal. Debe prestarse atención continua al animal hasta que la recuperación de la anestesia sea completa y comprobar su estado frecuentemente al menos durante 48 horas (HASKINS, 1986). Debe permitirse una dieta moderadamente restringida durante ese periodo inicial de recuperación. Tras una operación gastrointestinal a rumiantes herbívoros, debe

restringirse el acceso a concentrados y cereales de fermentación rápida a fin de permitir la recuperación de la actividad normal de la microflora ruminal.

## **PROFILAXIS**

Aunque se utilicen técnicas asépticas, en ocasiones puede ser aconsejable el tratamiento profiláctico con antibióticos, particularmente después de operaciones prolongadas debido a la conocida capacidad de las bacterias que residen de forma natural en los intestinos para emigrar hacia el torrente sanguíneo y provocar una bacteriemia. Una simple inyección del adecuado antibiótico de amplio espectro inmediatamente después de la operación suele ser suficiente. Se requiere asimismo un tratamiento con antibióticos cuando se administran tras la operación dosis antiinflamatorias de corticosteroides adrenales. Debiera aplicarse una terapia adicional de líquidos, cuando esté indicado, durante la recuperación postoperatoria y pudiera en algunos casos ser necesario consultar con un veterinario.

Como se ha indicado anteriormente, las heridas postquirúrgicas pueden requerir protección contra la interferencia autoinfligida del animal. Para aumentar la protección contra la apertura de heridas es aconsejable usar solamente suturas interrumpidas o grapas metálicas. La utilización de un aerosol plástico puede ser de gran ayuda. En perros y primates e incluso en ratas y ratones, pueden utilizarse collares Elisabetianos para evitar o restringir los problemas en los puntos de incisión. En algunos animales, como terneros, pueden utilizarse vendajes o fajas para proteger catéteres exteriores. En algunos casos pueden ser necesarios las camisas inmovilizadoras o arneses.

## **CUIDADOS POSTOPERATORIOS**

Las atenciones durante la recuperación, por parte de personal conocido en un entorno también conocido, suelen ser beneficiosas para el bienestar del animal. Las suturas cutáneas o las grapas deberán quitarse cuando la herida está cicatrizada, normalmente al cabo de 8-12 días. Debe recordarse que las suturas pueden un foco de infección. Pueden ser necesarios otros muchos cuidados postoperatorios, tales como el cambio de vendajes, la retirada de drenajes quirúrgicos, la administración de medicamentos, el control de parámetros fisiológicos y todo lo que asegure el bienestar del animal (FLECKNELL, 1987). El objeto de tan estrechos cuidados postoperatorios es que el animal recupere la salud en el tiempo más corto posible.

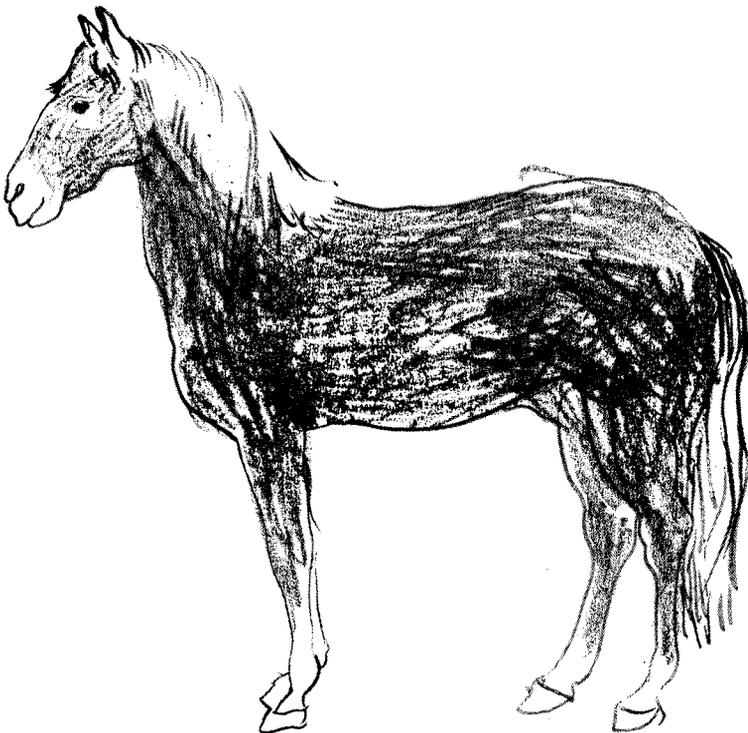
## CONCLUSIÓN

El sistema británico de control del uso de animales para fines científicos pretende asegurar que los posibles efectos adversos de los experimentos no sobrepasan los beneficios que pudieran aportar. Ello requiere los máximos estándares en la planificación y ejecución de los procedimientos que incluyen la cirugía.

Siempre deberán tenerse en cuenta las necesidades de cada animal, además los cuidados ofrecidos por el personal encargado de la operación, mantenimiento y vigilancia antes, durante y después de la operación es seguramente uno de los factores más importantes a la hora de llevar a cabo un procedimiento con éxito.

Este capítulo ofrece tan sólo una introducción general al tema y remite algunos a los textos estándar. Los conocimientos acerca del comportamiento y la cría de animales, de los métodos y los efectos previsibles de la cirugía y de la eficacia de los agentes analgésicos y anestésicos están creciendo sin cesar. Es importante que esa información sea compartida. Los experimentadores autorizados, los técnicos en animales y los veterinarios responsables del cuidado y uso de animales de laboratorio debieran compartir sus conocimientos y experiencias. Ellos mismos deben mantenerse al día en los desarrollos que puedan incrementar sus conocimientos o mejorar sus técnicas. Es de esperar que este texto ayude a dirigir su atención hacia la necesidad de alcanzar y mantener los necesarios estándares en los procedimientos quirúrgicos.

## 5. PLANIFICACIÓN Y DISEÑO DE EXPERIMENTOS



## **5. PLANIFICACIÓN Y DISEÑO DE EXPERIMENTOS**

### **CONCEPTOS GENERALES**

Este capítulo está dirigido al tipo de experimentos en los que se comparan las respuestas de los animales a diversos tratamientos. Tales experimentos son una parte necesaria de la investigación fundamental y del desarrollo y control de seguridad de productos medicinales, industriales y otros. La mayoría de las consideraciones surgen del hecho de que puede ser necesaria la utilización de muchos animales a fin de obtener la información adecuada y un buen control de la variación experimental; y porque el espectro de efectos ante los tratamientos y la magnitud necesaria para producir varios niveles de respuesta, normalmente, no se conocen de antemano.

Las investigaciones pueden durar la mayor parte del período de vida del animal, lo cual significa que los efectos del envejecimiento y de los trastornos que pueda sufrir durante su vida, probablemente serán importantes. La situación es diferente para muchos experimentos realizados en laboratorios fisiológicos y similares, pues los efectos buscados son muchas veces cortos y reversibles, de manera que las comparaciones pueden ser realizadas rápidamente entre sucesivas respuestas durante tipos simples de experimentos.

En todos los casos las consideraciones fundamentales son que el problema a investigar valga la pena de ser resuelto y que sea necesario el uso de animales para hacerlo. El experimentador debe asegurarse de que:

- el objetivo, finalidad y posible valor del estudio propuesto han sido claramente definidos.
- se ha realizado un estudio minucioso de la bibliografía, han sido elegidas las especies más adecuadas y han sido determinadas las mejores técnicas experimentales y las dosis y tratamientos más idóneos.

Debiera tomarse en consideración la necesidad de incluir un estudio piloto para comprobar que el diseño propuesto será efectivo, y de preparar un programa de experimentos, que sitúe las investigaciones menos estresantes en primer lugar,

por si proporcionan la respuesta a la investigación o permiten reducir el número de animales requeridos.

La esencia de una buena planificación es la aplicación de los tres principios de la técnica experimental humanitaria, establecidos por RUSSELL & BURCH en 1959 y conocidos como las tres R:

- **Reemplazar** vertebrados vivos conscientes por material no sensible, tal como cultivos de tejidos, órganos aislados, bacterias.
- **Reducción** del número de animales requeridos para un cierto grado de precisión, mediante el adecuado diseño estadístico y/o el uso de animales genéticamente homogéneos.
- **Refinamiento** mediante la selección de técnica a fin de reducir al mínimo cualquier dolor o molestia que pueda implicar el estudio.

Uno de los aspectos más importantes de la Ley de 1986 es la exigencia de evaluar los probables efectos adversos en los animales, por ejemplo la intensidad del dolor, del sufrimiento, del estrés o de la lesión permanente en comparación con los beneficios que razonablemente quepa esperar como resultado del trabajo. En la guía del *Home Office* [Ministerio del Interior] (HOME OFFICE, 1990) se establece cómo cumplir este requisito, y el *Working Party of the Association of Veterinary Teachers and Research Workers* [Grupo de trabajo de la asociación de profesores veterinarios y experimentadores] (AVTRW/UFAW, 1989) ha establecido unas útiles normas para el reconocimiento y evaluación del dolor en animales. La evaluación y el control de la gravedad de los procedimientos científicos están bien estudiados en LASA (1990). Un tema crucial siempre que se planifican experimentos es la búsqueda de medios para minimizar la severidad del procedimiento seleccionando las técnicas más suaves, prestando una estrecha atención al alivio del dolor y el malestar, y adoptando fines más cercanos y humanitarios. Es muy importante la colaboración entre la persona autorizada para la realización del proyecto, el veterinario titular, los técnicos de animales y otros responsables del cuidado de los mismos. Siempre es deseable, en términos de bienestar para los animales, una consulta previa con el *Home Office Inspectorate* [Inspectorado del Ministerio del Interior], pues puede ahorrar mucho trabajo.

## PLANIFICACIÓN

La necesidad de utilizar animales vivos y no sistemas no sensibles, siempre debe ser cuidadosamente sopesada cuando se planifica un trabajo experimental, y tal consideración queda específicamente requerida por la Ley de 1986.

En general, los experimentos no debieran llevarse a cabo en animales vivos a menos que resulte imposible alcanzar por medios alternativos los resultados buscados. Sin embargo está aceptado que hay algunos tipos de investigación a

los que no hay alternativas satisfactorias disponibles, por ejemplo estudios de:

1. Procesos fisiológicos relativos a las interacciones entre diferentes órganos en el cuerpo.
2. Comportamiento animal.
3. Procederes terapéuticos contra enfermedades que no pueden ser reproducidas *in vitro*.
4. Pruebas de toxicidad cuando los procedimientos *in vitro* son inadecuados.
5. Aspectos de la enfermedad que incluyan relaciones huésped-parásito.

Los experimentadores tienen el deber de buscar los métodos que impliquen el mínimo potencial de infligir daño, a los animales de experimentación.

### SELECCIÓN DE ESPECIES Y RAZAS

Si han de utilizarse animales vivos, las especies elegidas deben ser las más inferiores en la escala filogenética que sean capaces de satisfacer el objetivo del experimento. La Ley de 1986 se refiere actualmente a los experimentos regulados en vertebrados, pero da pie a que la protección sea extendida en el futuro a los invertebrados. Aunque los principios sobre planificación y diseño de este capítulo se refieren generalmente a los mamíferos, pueden ser aplicables a otras clases de vertebrados. Además, sería justo tratar a los invertebrados de forma que fuera comparable a la adecuada para los vertebrados, ya que la predisposición en favor de cualquier clase de animales debería observarse en todo momento.

La mayoría de los experimentos se practican en mamíferos debido a su similitud fisiológica con el hombre. Este punto de vista parece sugerir que lo mejor sería utilizar primates, pero estos deberían ser elegidos únicamente cuando sea necesario investigar aspectos no compartidos con ningún otro mamífero. Es preferible utilizar una especie con patrones de conducta menos desarrollados que otra en la que son más complejos.

En algunos casos la elección puede quedar condicionada por consideraciones prácticas, tales como disponibilidad, facilidad de manejo o coste de una especie o raza en particular. Asimismo puede ser un factor importante la disponibilidad de las instalaciones de alojamiento adecuadas, por ejemplo entornos altamente controlados. Hay muchas ventajas en seleccionar una raza por su probada idoneidad, por ejemplo susceptibilidad a una enfermedad en particular, o respuesta a un tratamiento determinado. La existencia de un mayor conocimiento acerca de una especie o raza en particular es una razón más en favor de su elección. Es relevante la cantidad de conocimiento básico acumulado en investigaciones previas así como el de afecciones espontáneas, pero hay que tener en cuenta que las respuestas fisiológicas y patológicas pueden estar influenciadas

por la estructura genética del animal y por factores de su entorno, aparentemente sin importancia. Estos pueden causar variaciones, tanto en los resultados de experimentos aparentemente comparables, como en los hallazgos encontrados por diferentes laboratorios.

En los experimentos en los que se vaya a estudiar una condición que se presente de forma natural y que sea parecida a una enfermedad humana, las especies y razas elegidas quedarán habitualmente restringidas a aquellas en las que la condición se produzca con alta frecuencia. Una fuente valiosa para identificar tales especies y razas es la bibliografía publicada por BUSTAD et al. (1975). Una referencia más reciente y que cubre algunos de esos campos es GARTNER et al. (1982).

Otros factores generales que rigen la elección de especies en experimentos sobre toxicidad están recogidos por CALABRESE (1982), TARDIFF & RODRICKS (1987) y ROLOFF (1987). FESTING (1979) ofrece una valiosa información sobre las razas consanguíneas y la variabilidad de sus respuestas al tratamiento. Una monografía producida por la *International Agency for Research on Cancer* [Agencia internacional para la investigación del cáncer] (IARC, 1980; PETO et al., 1980) así como las investigaciones de GRICE & CIMINERA (1988) ofrecen detallada discusión acerca de la elección de animales para comprobar la carcinogenicidad; esas publicaciones serán asimismo útiles para planificar prolongados experimentos con otros objetivos.

## INSTALACIONES DEL LABORATORIO

El número de animales requeridos variará de acuerdo con los experimentos. Muchos estudios complejos se llevan a cabo en establecimientos donde tales trabajos se efectúan de forma rutinaria y en los que se facilitan sin problema las instalaciones necesarias y el personal capacitado. Sin embargo, si se piensa realizar un experimento en un laboratorio en el que el personal no posee la experiencia necesaria, es esencial asegurarse de que en cada fase del trabajo estarán disponibles el personal entrenado y las instalaciones requeridas. En el *Home Office Code of Practice* [Código de uso del Ministerio del Interior] (HOME OFFICE, 1989) se tratan aspectos importantes sobre el alojamiento y cuidado de animales de experimentación. Los puntos adicionales que deben ser específicamente comprobados son:

1. Disponibilidad de un número suficiente de animales sanos de la especie, raza, sexo y edad seleccionados, o de animales afectados por la enfermedad espontánea a estudiar.
2. Disponibilidad en el animalario del espacio y las jaulas necesarias durante todo el experimento.
3. Condiciones apropiadas en el animalario para que el bienestar de los animales se mantenga adecuadamente a lo largo del experimento. En algunos casos será necesario, para los animales, separarlos.

4. El Director del animalario, los miembros del personal implicados y el veterinario nominado deben ser plenamente conscientes de lo que se va a requerir de ellos.
5. Un sistema de registro fiable y exacto, y hasta donde sea posible la comprobación, de todas las variables de interés a lo largo de los experimentos así como otras apropiadas como indicadores de la salud de los animales.

Aunque es el científico en particular quien tiene la responsabilidad última, normalmente son los miembros del personal del animalario –que pueden no poseer una autorización personal– quienes se hacen cargo del cuidado de los animales. Tal y como prescribe la Ley de 1986, estarán incluidos el encargado del cuidado diario y el veterinario nominado, quienes deben mantenerse disponibles para consulta y ayuda. Debe haber una estrecha relación entre esas personas y el científico durante la fase de planificación, particularmente si hay previstas operaciones u otros procedimientos más estresantes.

## **DISEÑO DE EXPERIMENTOS**

Un experimento debe ser realizado de tal forma que mantenga los más altos estándares de bienestar del animal y que proporcione información objetiva. Para asegurarse de que esto es así son necesarios el control continuo y la autocritica, por parte del experimentador.

Para la mayoría de experimentos, especialmente los mayores, más largos y de tipo más complejo, y aquellos en los que se sabe que las variaciones fisiológicas o los factores ambientales pueden influir en los resultados, es importante diseñar el estudio de tal forma que se consiga la mayor cantidad de información y la máxima fiabilidad de forma efectiva. Ello requerirá usualmente una consulta previa con el estadístico acerca de todos los aspectos del diseño y realización del estudio, a fin de asegurarse de que el plan experimental sea eficaz y económico y de que se deje un margen para los imprevistos. Es importante asegurarse de que los estudios con fines regulatorios cumplen los requisitos específicos de tantas autoridades como sea posible.

Al dibujar el plan experimental debería solicitarse el consejo apropiado a un experto tan pronto como sea posible. Es necesario asegurarse de que se emplean los controles adecuados para reconocer las muchas y en ocasiones sutiles vías por las que variaciones no deseadas y otras diversas fuentes de errores espontáneos y adquiridos pueden influir en los resultados de las investigaciones, especialmente si son complejas o prolongadas.

Las conclusiones de la etapa de planificación conformarán el protocolo experimental, que debe ser lo suficientemente general y detallado como para permitir a todos los implicados utilizarlo a modo de relación concisa de los objetivos del experimento; como guía completa de sus responsabilidades, del

cuidado de los animales utilizados, del trabajo a realizar, de las observaciones a registrar y la forma en que deben ser analizadas, y de las decisiones a tomar en el caso de cualquier posible eventualidad. En circunstancias adecuadas, deberá asimismo incluir los detalles requeridos para cumplir los controles legales y demás requisitos.

Los biólogos debieran evaluar de antemano si están lo suficientemente versados en estadística como para no precisar consejo profesional, especialmente en experimentos complejos y en aquellos que implican interacciones y efectos indirectos. Si necesitan ayuda, debieran asegurarse de que comprenden lo suficiente los principios del diseño experimental y el análisis como para saber qué clase de información deben solicitar al estadístico. Debieran ser capaces de entender los razonamientos expuestos por éste y de comparar el incremento en precisión o en sensibilidad que puede obtenerse mediante el uso de mayor número de animales, con el incremento del costo en términos del bienestar animal y humano y de los restantes recursos utilizados. Puede que el biólogo y el estadístico deban sopesar juntos las ventajas de los diseños, en los cuales unos pocos animales reciben diversos tratamientos en relación a la necesidad de asegurarse de que ningún animal es expuesto a un uso inaceptablemente repetitivo.

Se debe asimismo valorar la ventaja de un diseño sencillo y sólido frente al valor especial de otro experimento más complejo, en el cual puede darse el riesgo de pérdidas masivas de información si falla alguna parte del estudio.

SALSBURG (1987) ofrece una visión realista de los puntos de vista del estadístico acerca del diseño y análisis de experimentos realizados con fines reglamentarios, que constituye un valioso contraste con las detalladas monografías estadísticas. Otros aspectos sobre las pruebas de carcinogénesis son analizados por GART et al. (1986) y por GRICE & CIMINERA (1988).

No todos los experimentos que implican animales de laboratorio necesitan sofisticados análisis estadísticos, por ejemplo los estudios piloto, o los trabajos exploratorios para establecer mecanismos básicos. Si uno de estos trabajos iniciales pasa a convertirse en la determinación de efectos a gran escala, o en un estudio sobre toxicidad a lo largo de un plazo de tiempo prolongado, es esencial utilizar el diseño adecuado para alcanzar eficaz y efectivamente el objetivo del experimento. En ciertos tipos de experimento estrechamente controlados, tales como un bioensayo con fines farmacéuticos, los métodos de diseño y análisis pueden quedar definidos por los requisitos legales o científicos.

No es adecuado buscar la ayuda del estadístico para el análisis de los resultados una vez completado el experimento, ya que probablemente sea demasiado tarde para compensar los fallos del diseño experimental.

## **TIPOS DE DISEÑO**

Una vez concebido el objetivo de un experimento, el estadístico puede aconsejar acerca del tipo de diseño más adecuado y el número de animales necesarios

para alcanzar una precisión determinada. El diseño dependerá de si lo que se busca es un único efecto, una respuesta gradual, un abanico de efectos o cambios en el tiempo y de la necesidad de controlar los factores ambientales u otros que influyan en la variabilidad entre individuos o dentro del mismo individuo. El objetivo de la contribución del estadístico será el alcanzar el máximo posible en la fiabilidad de la información obtenida, minimizar el número de animales requeridos para obtener un grado de precisión apropiado e identificar y controlar las fuentes de variabilidad.

Los diseños típicos son los diseños de grupos paralelos en los cuales cada animal sólo recibe un tratamiento experimental; los diseños cruzados, en los cuales cada animal recibe varios tratamientos en periodos sucesivos, y los más sofisticados, los diseños factoriales, en los cuales puede ser examinado más de un tratamiento. Si, como suele ocurrir, la variabilidad dentro del mismo animal es menor que entre individuos, entonces para el mismo número de animales las comparaciones entre tratamientos obtenidas con un diseño cruzado son más precisas que las de un diseño de grupo paralelo. Lo contrario será válido cuando la variación de unos animales a otros sea menos importante, por ejemplo cuando se usan animales estrictamente consanguíneos. En un diseño factorial que puede ser del tipo grupos cruzados o paralelos, las comparaciones entre tratamientos pueden ser realizadas tanto entre individuos como dentro del mismo individuo, pero a base de poner en práctica un plan experimental más complejo.

Los diseños cruzados y factoriales pueden hacer posible investigar dos o más tratamientos en el mismo número de animales necesarios para examinar un tratamiento único en un diseño de grupos paralelos, pero con la misma precisión.

Los diseños cruzados pueden ser completos, en los cuales cada grupo recibe cada uno de los tratamientos durante diferentes o iguales periodos; o pueden ser incompletos, en los cuales cada grupo recibe algunos de los tratamientos investigados. Un diseño cruzado completo comúnmente utilizado es el Cuadrado Latino, en el cual cada grupo no sólo recibe cada uno de los tratamientos en periodos sucesivos sino que, durante cada periodo, cada tratamiento se aplica a un grupo y sólo a uno, de manera que cualquier cambio progresivo durante el experimento afectará igualmente a todos los tratamientos.

El problema con los diseños cruzados es que una condición o una enfermedad puede variar durante un periodo de tiempo y afectar a los resultados de tratamientos posteriores, y que el efecto de un tratamiento usado en un periodo puede cambiar durante el siguiente periodo y afectar a sus resultados. Tales efectos de continuación pueden ser prevenidos o atenuados insertando periodos sin tratamiento o con un tratamiento placebo, o utilizando diseños cruzados más elaborados (ABEYASERERA & CURNOW, 1984; EBBUTT, 1984).

Los diseños factoriales, además de compartir con los diseños cruzados la ventaja de necesitar menos animales que las series equivalentes de pruebas con tratamiento único, poseen sobre éstos las siguientes ventajas:

1. La duración necesaria puede ser inferior a la de un diseño cruzado.
2. Cada tratamiento es probado sobre un campo más amplio de estados de salud (por ejemplo presencia y ausencia de otros tratamientos).
3. Si los efectos de los tratamientos no son simplemente aditivos, ello se hará evidente en los resultados.

Los diseños factoriales fraccionados, bajo determinadas circunstancias, pueden ofrecer tanta información como los experimentos cruzados, pero con menor número de animales.

Los diseños factoriales no pueden ser usados con combinaciones de tratamientos incompatibles: pero en las muchas situaciones en que son aplicables puede que sea posible obtener información más eficazmente de un determinado grupo de animales. Su punto fuerte reside en la gran precisión que puede obtenerse, siempre y cuando los tratamientos no interaccionen. Esto es especialmente importante si se necesita utilizar especies raras o costosas, animales particularmente sensibles a las circunstancias experimentales, o razas con enfermedades heredadas. ARMITAGE (1971) ofrece una discusión útil acerca de los estudios factoriales.

Los diseños experimentales secuenciales han demostrado ser valiosos en ciertas pruebas clínicas (ARMITAGE, 1971), pero el tiempo requerido y otros problemas han desaconsejado su adopción en muchos otros estudios.

## CONTROLES

Los controles pueden ser al menos de dos tipos: controles negativos que representan el estado "normal" o sin tratamiento y controles positivos, aplicados para producir un efecto; los controles sirven para comparar y confirmar la adecuación del sistema de detección. El escoger controles satisfactorios es una de las partes más importantes de un buen trabajo experimental. Se deberá seleccionar, al azar, un grupo de animales de control negativo, del grupo de tratamiento y luego tratarlo y alojarlo en condiciones idénticas a éste. En algunos trabajos los controles deben recibir placebo o el vehículo disolvente del compuesto investigado. En otros trabajos los controles pueden estar en alguna fase de la enfermedad cuyo tratamiento se esté investigando; en tal caso y debido a que no pueden ser tratados, debe seguirse la evolución de la misma hasta un punto predeterminado y elegido para minimizar la perturbación a los animales y al mismo tiempo cumplir los objetivos experimentales. Los controles positivos tratados con una sustancia activa son en ocasiones necesarios para ofrecer una comparación válida.

## NÚMERO DE ANIMALES

Siempre se debe reducir al mínimo el número de animales a utilizar, sea apreciable o no el sufrimiento implicado, e incluso a pesar de que una

considerable proporción de los experimentos autorizados no impliquen sufrimiento; por ejemplo experimentos bajo anestesia total sin recuperación. Los investigadores deben asegurarse de que el número utilizado es necesario para el objetivo del trabajo. Por esta razón debe otorgarse especial consideración a las técnicas estadísticas necesarias para fundamentar ese juicio.

Cualquiera que sea el plan experimental adoptado, una de las decisiones más importantes a tomar antes de que empiece el experimento es la del número de animales que serán necesarios. En todos los casos esta decisión requiere un equilibrio entre la necesidad de la alta precisión o potencia estadística que entrañan el uso de mayor número de animales, y las consideraciones de factibilidad, minimización de las molestias a los animales y costos. Bien pudiera ser que la precisión o la potencia estadística inicialmente consideradas sean inaceptables, porque requieran una cantidad de animales o un nivel de sufrimientos inflingidos que resulten prohibitivos en tales términos, en cuyo caso habrá que reducirlas.

Cuando el objeto del experimento es obtener una **estimación** de una cierta cantidad, por ejemplo la dosis media efectiva de la sustancia investigada, es posible calcular el número de animales necesario a fin de alcanzar un nivel determinado de **precisión**, normalmente expresado en forma de error estándar, ya sea en términos absolutos o como porcentaje de la propia estimación. Para este cálculo es necesario conocer la variabilidad de la medición y en muchos casos esto deberá ser calculado en base a pasados experimentos, incluyendo estudios piloto. La variabilidad implicada puede ser dentro del mismo individuo o entre individuos, dependiendo del diseño experimental y del método de análisis estadístico.

Cuando el objeto es **detectar** un efecto –por ejemplo una reducción en la mortalidad de una infección experimental– debido a un tratamiento determinado, el cálculo apropiado da el número de animales necesario para alcanzar cualquier **potencia** estadística deseada en el experimento. La potencia se define como la probabilidad de detectar un efecto a un nivel específico de significación estadística, siempre de que en realidad exista un efecto de una magnitud dada. Una vez más, debe ser conocido o asumido un valor previo para la variabilidad y en este caso es asimismo necesario especificar la magnitud del efecto que se desea detectar. Este variará ampliamente de acuerdo con el contexto en el que se lleve a cabo el experimento. Existen fórmulas y tablas de potencia, por ejemplo en CASAGRANDE et al. (1978), FLEISS et al. (1980) y LACHIN (1981).

## ALEATORIEDAD

La asignación de individuos a grupos específicos debiera ser hecha de forma aleatoria (al azar) mediante un procedimiento objetivo, por ejemplo utilizando

una tabla de números aleatorios, que selecciona sin considerar las características individuales. La elección al azar asegura diversos beneficios en un experimento, fundamentalmente al prevenir cualquier deformación debida a una selección consciente o inconsciente por parte del experimentador cuando decide qué animales han de recibir tratamiento y cuáles serán controles.

La aleatoriedad es necesaria para la aplicación de pruebas estadísticas significativas. Reduce la descompensación entre los grupos tratados y los de control pues contempla las variables distorsionantes (conocidas a veces como variables equívocas, factores de pronóstico o covariables) tales como la edad, el peso y el sexo de los animales. Al mismo tiempo asegura que la contribución de ésto a la incertidumbre del resultado final esté correctamente calculada y permitida.

Únicamente la aleatoriedad puede proporcionar un equilibrio adecuado de los factores de perturbación. En los experimentos amplios la ley estadística de números grandes reduce el azar de desequilibrios importantes, pero muchas veces hay particular ventaja a ganar con la adopción de dos pasos más, estratificación y bloqueo, especialmente si la naturaleza del experimento y los factores de interferencia hacen difícil lograr la aleatoriedad.

La estratificación requiere clasificar a los animales de acuerdo con una o más variables de interferencia, por ejemplo peso corporal, con una distribución uniforme de esas clases en los grupos experimentales. El bloqueo requiere agrupar los animales de acuerdo con las combinaciones de las variables consideradas susceptibles de afectar a la respuesta estudiada, por ejemplo peso corporal y sexo, y una asignación aleatoria de tratamientos dentro de cada grupo. La comparación de los subgrupos mostrará la importancia de los factores implicados.

En Louis et al. (1982), se presenta una discusión sobre el bloqueo y otras técnicas. En estos casos se requiere consejo de un profesional para elegir el diseño apropiado y para analizar los resultados.

## **ALOJAMIENTO**

Los animales pueden ser alojados en jaulas, ya sea individualmente o en grupos pequeños, dependiendo de varios factores como la especie, la edad o el tratamiento. La distribución por sexos, el peso de los animales al inicio del estudio y la duración del experimento regirán el número de animales asignados a cada jaula, hasta lograr la densidad de población recomendada, y por lo tanto el número de jaulas requerido. En la mayoría de estudios, excepto para ciertos datos fetales, machos y hembras se consideran por separado.

Las condiciones físicas del entorno en todas las habitaciones de experimentos deben ser uniformes, en caso contrario diferentes posiciones de las jaulas podrán influir mucho en los resultados, particularmente en estudios prolongados o

complejos. La elevación de las jaulas, o sea, su proximidad a las luces o a la fuente de suministro de aire, puede afectar a ciertas especies de animales. Es deseable, por tanto, utilizar el sistema de bloqueo al decidir la colocación de las jaulas en los soportes o torres. El primer factor de bloqueo será la elevación de la jaula y el segundo la posición de la jaula en la torre. El segundo factor depende del grado de uniformidad que se da en la habitación. Si el tamaño del bloque fuese un múltiplo simple del número de grupos experimentales en ese caso podría utilizarse el sistema del Cuadrado Latino. Si la elevación fuese la única posible influencia importante, el diseño experimental podría ser simplificado.

## ANIMALES

La disponibilidad del número suficiente de animales apropiados debe ser confirmada en la fase de diseño. Esto es particularmente importante para animales consanguíneos y para animales grandes. Los animales de laboratorio sólo se pueden obtener legalmente de criadores y suministradores autorizados. Debieran ser transportados y entregados de forma que se minimice el estrés debido al cambio de entorno.

Para mantener una respuesta uniforme y minimizar el riesgo de introducir una enfermedad, debe evitarse en lo posible cambiar la fuente de suministro durante un experimento. Sin embargo, si pueden mantenerse la calidad microbiológica y de salud, el uso de animales de diferentes antecedentes genéticos o de diferentes suministradores, podría, en determinados experimentos, aportar una valiosa información adicional. En cualquier caso, la procedencia de los animales debe quedar registrada. Para algunas técnicas podría ser necesario un acondicionamiento previo, o una preparación quirúrgica. Debe establecerse con cuidado en qué momento comenzar el tratamiento experimental y las observaciones.

## CUIDADOS VETERINARIOS

Es requisito inexcusable asegurarse de impedir el sufrimiento innecesario. Debe permitirse la medicación u otro tratamiento, profiláctico o terapéutico, incluso durante el experimento. La administración de cualquier tratamiento debe hacerse bajo supervisión cualificada y experimentada, y registrarse los detalles del tratamiento. Puede incluso ser necesario retirar a un animal de un experimento porque necesite tratamiento.

## RESULTADOS

### ANÁLISIS

La forma en que se vayan a analizar los resultados debería ser decidida en la fase de elección del diseño experimental. Un simple recuento de los hallazgos puede ser todo lo que se requiere para responder a la pregunta planteada en un experimento, aunque la precisión de cada valor debiera ser tomada en cuenta. En ocasiones se requieren o pueden ser apropiados unos procedimientos estadísticos más complejos, que dan mucha más información; más adelante se ofrece una selección de fuentes de referencia, pero normalmente debiera requerirse la opinión de un experto acerca de su idoneidad. Las pruebas de significación han recibido en el pasado mucha más atención a expensas de métodos de estimación igual de simples, como por ejemplo, los límites de confianza (Pocock, 1985). Las bases y limitaciones de cualquier programa informático debieran ser clarificadas para prevenir supuestos erróneos acerca de la potencia y la exactitud de los resultados. Es probable que también aquí sea necesario el consejo profesional acerca de las técnicas y precauciones apropiadas.

Se mencionan varios procedimientos estadísticos de mayor o menor sofisticación como recordatorio del abanico de posibilidades disponibles y no para recomendar unas técnicas en contra de otras. El punto crucial es que el análisis de cualquier serie de datos debe reflejar la(s) pregunta(s) planteada(s), el diseño del experimento y cualquier estructura posterior sugeridos por los propios datos.

Los análisis pueden ser fácilmente llevados a cabo basados en un único animal. Las comparaciones entre los miembros de una camada, los compañeros de jaula, etc, pueden ser complicadas debido a la posibilidad de la no independencia de los resultados (HASEMAN & HOGAN, 1975; HEALEY, 1972; RILEY & MEYER, 1984). Muchos de estos factores se manejan mejor durante la elección inicial de un diseño experimental adecuado, así como cuando se utilizan técnicas de bloque y similares.

Se puede recurrir al análisis simple de varianza y covarianza para comprobar las diferencias entre grupos, y este último puede utilizarse para permitir cualquier tratamiento previo de diferencias entre los grupos. Existen técnicas estadísticas más complejas para datos continuos, incluyendo análisis de varianza y covarianza de mediciones repetidas. En estos análisis, la variable de interés es la media entre la respuesta de los diferentes grupos a lo largo del tiempo y la variación de los grupos a lo largo del mismo (WINER, 1971). Se puede investigar la interacción **tratamiento x tiempo** para buscar las tendencias lineales, por ejemplo la tasa media de "crecimiento", y las tendencias cuadráticas, tales como la tasa de cambio de la tasa de crecimiento. Cuando están implicados más de dos grupos,

los perfiles de respuesta a la dosis se pueden comprobar utilizando, por ejemplo, el test de Williams (WILLIAMS, 1972) o el test de Dunnett (DUNNETT, 1964).

En los análisis de varianza y covarianza la suposición subyacente de igualdad de varianza debiera ser comprobada, por ejemplo mediante el test de Levene (BROWN & FORSYTHE, 1974). Si hay evidencia de desigualdad se puede aplicar una transformación adecuada (ARMITAGE, 1971), o utilizar un procedimiento no paramétrico, por ejemplo el análisis de varianza de vía única de Kruskal-Wallis (HOLLANDER & WOLFE, 1973) con el test de Shirley (SHIRLEY, 1977) para comparar los grupos de tratamiento con el control. Cuando hay sólo dos grupos, se usa con frecuencia el t-test en lugar del análisis de varianza (con el que es formalmente equivalente) y del mismo modo el test Wilcoxon de suma no paramétrica en lugar del test de Kruskal-Wallis. El número y variedad de procedimientos analíticos disponibles, la complejidad de sus limitaciones y aplicabilidad, y el valor potencial de subgrupos o análisis de componentes, muestran la necesidad, en el análisis de resultados experimentales, de consejo experimentado.

Cuando la unidad experimental es la camada más que el animal individual, la variación en el tamaño de aquella puede ser examinada mediante el análisis de varianza de los pesos (ARMITAGE, 1971), o, si es necesario, con análisis de varianza jerarquizados (BROWNEE, 1965; HEALEY, 1972), seguidos del test de Williams.

Cuando los datos son cuantitativos, están disponibles el análisis de varianza de una vía de Kruskal-Wallis, seguido del test de Shirley o, para dos grupos, el test de Wilcoxon de suma no paramétrica. Para proporciones se pueden utilizar el método de la chi-cuadrada, que incorpora un test de estructura lineal (ARMITAGE, 1971; FLEISS, 1973) o el test de Bartholomew (FLEISS, 1973). Las tablas de contingencia de dos en dos pueden ser analizadas utilizando la chi-cuadrada con corrección continuada del Exact Test de Fisher (EVERITT, 1977).

PETO et al. (1980), GART et al. (1986) y GRICE & CIMINERA (1988) explican claramente unas excelentes normas sobre tests estadísticos acerca de todos los aspectos de carcinogenicidad y supervivencia.

## INFORME DE RESULTADOS

Un fallo corriente en los informes por escrito es la insuficiente información acerca de la naturaleza de los animales utilizados, su manejo y los detalles de las técnicas experimentales. Los animales debieran ser identificados por especies, razas y suministrador, y notificar especialmente cualquier cambio particular en su condición hereditaria; debieran darse el peso y el sexo junto con una indicación

del estado sanitario, por ejemplo mantenimiento de barreras genotobióticas, etc., e incluso la flora microbiana implicada, si es apropiado. Debe notificarse también la procedencia y composición de la dieta utilizada, junto con la información de si se ha esterilizado. Debieran facilitarse detalles sobre el régimen de comida y agua así como la composición y origen de las camas. Debieran enumerarse las condiciones ambientales, incluyendo el rango de temperaturas de humedad en la habitación, los cambios de aire por hora, y los ciclos e intensidad de luz. Debieran incluirse detalles sobre los métodos experimentales utilizados incluyendo anestesia y eutanasia. Una sección de metodología estadística debiera explicar en el informe final las técnicas utilizadas, los supuestos sobre las que están basadas, cualquier programa informático empleado y la implicación del análisis.

## CONCLUSIÓN

La cuidadosa planificación y diseño de experimentos es necesaria para garantizar el bienestar de los animales utilizados, y es esencial para que los procedimientos científicos tengan el mayor valor posible.

Este capítulo cubre únicamente los principios generales de la planificación y el diseño de experimentos y señala algunas aproximaciones a la evaluación estadística y a la presentación de resultados. Se da gran importancia a la necesidad del consejo de los expertos en la fase preliminar, especialmente para estudios largos o complejos. Cuando ha sido necesario se han facilitado fuentes de información más detallada. Para que los experimentos se diseñen y ejecuten de forma más eficaz y efectiva, debieran eliminarse los problemas comunes en el diseño, tales como los de los test de toxicidad a largo plazo (ROE & TUCKER, 1973), por ejemplo la aleatoriedad inadecuada, las variaciones no voluntarias en la posición en las torres, las diferencias entre habitaciones, las diferencias de observadores y operadores, la insuficiencia de registros o los fallos al tomar en consideración todos los datos en el análisis.

Los científicos, los responsables del cuidado diario de los animales, los inspectores del *Home Office* [Ministerio del Interior] y las agencias reguladoras deben continuar manteniéndose plenamente informados de los desarrollos que puedan mejorar el diseño y la ejecución de experimentos. Es de desear que este capítulo ayude a la producción de mejores estudios que entrañen menos estrés para los animales y requieran el uso de un número inferior de los mismos.

## REFERENCIAS



## REFERENCIAS

- ABEYASERERA, S. & CURNOW, R.N., 1984. The desirability of adjusting for residual effects in a crossover design. *Biometrics*, 40: 1071-1078.
- ADEMA, D.M.M., 1980. In: *Degradability, ectotoxicity and bioaccumulation: The determination of the possible effects of chemicals and wastes on the aquatic environment*: Ch.5. Government Publishing Office, The Hague.
- ADVISORY COMMITTEE ON DANGEROUS PATHOGENS, 1984. *Categorisation of pathogens according to hazard and categories of containment*. HMSO, London.
- ANDERSON, J.H. & HOUGHTON, P., 1983. The pole and collar system: a technique for handling and training non-human primates. *Lab. Animal Technical Report*, September 1983.
- ANDERSON, R.M. & ROMFH, R.F., 1980. *Technique in the use of surgical tools*. Appleton Century-Crofts, New York.
- ANDREWS, P.L.R. & ILLMAN, O., 1987. The Ferret. In: *The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals*: 436-455 (T.B. Poole, Ed.). Longman Scientific and Technical, Harlow.
- APHA-AWWA-WPCF, 1975. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 14th ed. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation, New York.
- ARMITAGE, P., 1971. *Statistical Methods in Medical Research*. Blackwell, Oxford.
- ASSOCIATION OF THE BRITISH PHARMACEUTICAL INDUSTRY, 1987. *Advisory note on laboratory animal allergy*. Association of the British Pharmaceutical Industry, London.
- AVERY, R.A., 1979. *Lizards - A study in thermoregulation*. Institute of Biology's Studies in Biology No. 109. Edward Arnold, London.
- AVMA PANEL, 1986. The 1986 Report of AVMA Panel on Euthanasia. *J. Am. Vet. Assoc.*, 188: 252-268.
- AVTRW, 1989. *Guidelines for the recognition and assesment of pain in animals*. Association of Veterinary Teachers and Research Workers. Prepared by a Working Party of the Universities Federation for Animal Welfare, Potters Bar.
- AVTRW/UFAW, 1989. *Guidelines for the Recognition and Assesment of Pain in Animals*. Prepared by a Working Party of the Association of Veterinary Teachers and Research Workers. Universities Federation for Animal Welfare, Potters Bar.
- BARCLAY, R.J., HERBERT, W.J. & POOLE, T.B., 1988. *The Disturbance Index: A*

- behavioural method of assessing the severity of common laboratory procedures of rodents.* Universities Federation for Animal Welfare, Potters Bar.
- BELLHORN, R.W., 1980. Lighting in the animal environment. *Lab. Anim. Sci.*, 30: 440-450.
- BLEICHER, N., 1965. Care of animals during surgical experiments. In: *Methods of animal experimentation*, Vol. 1 (W. I. Gay, Ed.). Academic Press, New York.
- BRITISH VETERINARY ASSOCIATION, 1984. *Farm animal housing: a compilation of articles from the Veterinary Record.* British Veterinary Association, London.
- BROWN, M.B. & FORSYTHE, A.B., 1974. Robust tests for the equality of variances. *Journal American Statistical Association*, 69: 364-367.
- BROWNLEE, K.A., 1965. *Statistical Theory and Methodology in Science and Engineering.* Wiley, New York.
- BUSTAD, L.K., HEGREBERG, G.A. & PADGETT, G.A., 1975. *Naturally Occurring Animal Models of Human Disease: a bibliography.* Institute of Laboratory Animal Resources, National Academy of Sciences, Washington DC.
- CALABRESE, E.J., 1982. *Principles of Animal Extrapolation.* John Wiley and Sons Ltd., London.
- CANADIAN COUNCIL ON ANIMAL CARE, 1980. *Guide to the care and use of experimental animals.1.* Canadian Council on Animal Care, Ottawa.
- 1984. *Guide to the care and use of experimental animals. 2.* Canadian Council on Animal Care, Ottawa.
- CARPENTER, G.A., 1972. The design of permeable ducts and their application to the ventilation of livestock buildings. *J. agric. Engng. Res.*, 17: 219-230.
- CASAGRANDE, J.T., PIKE, M.C. & SMITH, P.G., 1978. The power function of the 'exact' test for comparing two binomial distributions. *Applied Statistics*, 27: 176-180.
- CHARTERED INSTITUTION OF BUILDING SERVICES ENGINEERS (CIBSE), 1986-87. *Guide* (3 vols.). Chartered Institution of Building Services Engineers, London.
- CLARKE, H.E., COATES, M.E., EVA, J.K., FORD, D.J., MILNER, C.K., O'DONOGUE, P.N., SCOTT, P.P. & WARD, R.J., 1977. Dietary standards for laboratory animals: Report of the LAC Diets Advisory Committee. *Lab. Anim.* 11: 1-28.
- CLOUGH, G., 1982. Environmental effects on animals used in biomedical research. *Biol. Rev.*, 57: 487-523.
- 1984. Environmental factors in relation to the comfort and well-being of laboratory rats and mice. In: *Standards in laboratory animal management: 7-24.* Proceedings of a LASA/UFAW Symposium. UFAW, Potters Bar.
- 1987. The animal house; design, equipment and environmental control. In: *The UFAW handbook on the care and management of laboratory animals*, 6th ed. Ch. 8: 108-143. Longman Group UK Ltd., Harlow.
- CLOUGH, G. & FASHAM, J.A.L., 1975. A "silent" fire alarm. *Lab. Anim.*, 9: 193-196.
- CLOUGH, G. & TOWNSEND, G.H., 1987. Transport. In: *The UFAW handbook on the care and management of laboratory animals*, 6th ed. Ch. 10: 159-169. Longman Group UK Ltd., Harlow.
- COATES, M.E., 1984. Sterilization of diet. In: *The germfree animal in biomedical research* (M.E. Coates & B.E. Gustafssen, Eds.). Laboratory Animals Ltd., London.
- COATES, M.E. & GUSTAFSEN, B.E. (Eds.), 1984. *The germfree animal in biomedical research.* Laboratory Animals Ltd., London.
- COBORN, J. & LAWRENCE, K., 1987a. Tortoises and terrapins. In: *The UFAW handbook*

- on the care and management of laboratory animals: 721-731* (T.B. Poole, Ed.). Longman Scientific and Technical, Harlow.
- 1987b. Snakes and lizards. In: *The UFAW handbook on the care and management of laboratory animals: 732-752* (T.B. Poole, Ed.). Longman Scientific and Technical, Harlow.
- CONALTY, M.L. (Ed.), 1967. *Husbandry of laboratory animals*. Academic Press, London.
- COUNCIL OF EUROPE, 1986. *European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes*. Council of Europe, Strasbourg. (Obtainable London: HMSO).
- COUNCIL OF EUROPEAN COMMUNITIES, 1986. *Council Directive on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes*. 86/609 EEC Council of European Communities, Brussels / Council of European Communities, Brussels / Her Majesty's Stationery Office, London.
- DAVIES, P.M.C., 1981. Anatomy and Physiology. In: *Diseases of the reptilia* (J.E. Cooper & O.J. Jackson, Eds.). Academic Press, London and New York.
- DOUGLAS, D.M., 1963. *Wound healing and management*. E. & S. Livingston, Edinburgh.
- DUNNETT, C.W., 1964. New tables for multiple comparisons with a control. *Biometrics*, 20: 482-491.
- EBBUTT, A.F., 1984. Three period crossover designs for two treatments. *Biometrics*, 40: 219-224.
- ELLIS, D.H. & FOLLET, B.K., 1983. Gonadotrophin secretion and testicular function in golden hamsters exposed to skeleton photoperiods with ultrashort light pulses. *Biol. Reprod.*, 29: 805-818.
- EVA, J., 1984. Problems in maintenance nutrition of rabbits. In: *Standards in laboratory animal management*. Proceedings of a LASA/UFAW Symposium: 168-179. UFAW, Potters Bar.
- EVERITT, B.S., 1977. *The Analysis of Contingency Tables*. Chapman and Hall, London.
- FAGEN, R., 1981. *Animal Play Behaviour*. Oxford University Press, Oxford.
- FESTING, M.F.W., 1979. *Inbred Strains in Biomedical Research*. Macmillan, London.
- FLECKNELL, P.A., 1987. *Laboratory animal anaesthesia*. Academic Press, London.
- FLEISS, J.L., 1973. *Statistical Methods for Rates and Proportions*. Wiley, New York.
- FLEISS, J.L., TYTUN, A. & URY, H.K., 1980. A simple approximation for calculating sample sizes for comparing independent proportions. *Biometrics*, 36: 343-346.
- FLETCHER, J.L., 1976. Influence of noise on animals. In: *Control of the animal house environment*, Laboratory Animal Handbooks No.7: 51-62 (T. McSheehy, Ed.). Laboratory Animals Ltd., London.
- FOSTER, H.L., SMALL, J.D. & FOX, J.G. (Eds.), 1983. *The mouse in biomedical research. Vol. III*. Academic Press, New York.
- GAMBLE, M.R., 1982. Sound and its significance for laboratory animals. *Biol. Rev.*, 57: 395-421.
- GART, J.J., KREWSKI, D., LEE, P.N., TARONE, R.E. & WAHRENDORF, J., 1986. *Statistical Methods in Cancer Research, Vol III: The design and analysis of long-term animal experiments*. IARC Scientific Publications Series No 79. International Agency for Research on Cancer, Lyon.
- GÄRTNER, K., BÜTTNER, D., DÖHLER, R., FRIEDEL, R., LINDENA, J. & TRAUTSCHOLD, I., 1980.

- Stress response of rats to handling and experimental procedures. *Laboratory Animals*, 14: 267-274.
- GARTNER, K., HACKBARTH, H. & STOLTE, H. (Eds), 1982. *Experimental Biology and Medicine, Vol 7: Research animals and concepts of applicability to clinical medicine*. A. Karger, Basel; John Wiley and Sons Ltd., Chichester.
- GRANT, L., HOPKINSON, P., JENNINGS, G. & JENNER, F.A., 1971. Period of adjustment of rats used for experimental studies. *Nature*, 232: 135.
- GREEN, C.J., 1979. *Animal Anaesthesia*. Laboratory Animals Ltd., London.
- 1982. *Animal Anaesthesia*. Laboratory Animal Handbook, 8. Laboratory Animals Ltd., London.
- GREENMAN, D.L., BRYANT, P., KODELL, R.L. & SHELDON, W., 1982. Influence of cage shelf level on retinal atrophy in mice. *Lab. Anim. Sci.*, 32: 440-450.
- GRICE, H., CIMINERA, J., 1988. *Carcinogenicity Testing. The Design, Analyses and Interpretation of Long-term Animal Studies*. Springer-Verlag, New York.
- HALL, L.W., 1980. Shock. In: *Scientific foundations of veterinary medicine* (A.T. Phillipson, L.W. Hall & W.R. Pritchard, Eds.) Wm. Heinemann, London.
- HALL, L.W. & CLARKE, K.W., 1983. *Veterinary Anaesthesia*. 8th Edition. Bailliere Tindall, London.
- HALVER, J.E. (Ed.), 1972. *Fish nutrition*. Academic Press, New York.
- HARRISON, R.M. & WILDT, D.E., 1980 (Eds.). *Animal laparoscopy*. Williams & Wilkins, Baltimore.
- HASEMAN, J.K. & HOGAN, M.D., 1975. Selection of the experimental unit in teratology studies. *Teratology*, 12: 165-172.
- HASKINS, S.C., 1986. Postoperative care. In: *Methods of animal experimentation*. Vol VII (W. I. Gay, Ed.). Academic Press, Orlando.
- HAWKINS, A.D. (Ed.), 1981. *Aquarium systems*. Academic Press, London.
- HEALEY, M.J.R., 1972. Animal litters as experimental units. *Journal Royal Statistical Society*, 21: 155-159.
- HOLDEN, A.V. & WINLOW, W. (Eds.), 1984. *The neurobiology of pain*. University Press, Manchester.
- HOLLANDER, M. & WOLFE, D.A., 1973. *Nonparametric Statistical Methods*. Wiley, New York.
- HOME OFFICE, 1978. *The use and safekeeping of tranquillising weapons*. Home Office, London.
- 1986. *Home Office guidance on the operation of the Animals (Scientific Procedures) Act 1986*. Home Office, London.
- 1988. *Home Office guidelines on the use of neuromuscular blocking agents*. Home Office, London.
- 1989. *Code of Practice for the Housing and Care of Animals used in Scientific Procedures*. Her Majesty's Stationery Office, London.
- 1990. *Guidance on the Operation of the Animals (Scientific Procedures) Act 1986*. Her Majesty's Stationery Office, London.
- IARC, 1980. *Long-term and Short-term Screening Assays for Carcinogens: A critical appraisal*. IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans (Supplement 2). International Agency for Research on Cancer, Lyon.
- IASP, 1979. Report on the International Association for the Study of Pain sub-committee on taxonomy. *Pain*, 6: 249-252.

- IGGO, A., 1985. *Pain in Animals* (Text of Hume Memorial Lecture). Universities Federation for Animal Welfare, Potters Bar.
- INDUSTRIAL INJURIES ADVISORY COUNCIL, 1986. *Occupational Asthma*. Cmnd 9717. HMSO, London.
- INSTITUTE OF BIOLOGY, 1985. *Safety in biological laboratories* (C.H. Collins, Ed.). John Wiley and Sons Ltd., Chichester.
- KAPLAN, H.M. & TIMMONS, E.H., 1979. *The rabbit - a model for the principles of mammalian physiology and surgery*. Academic Press, New York.
- KIRK, R.M., 1978. *Basic surgical techniques*. 2nd edition. Churchill Livingstone, Edinburgh.
- KITCHELL, R.L. & ERICKSON, H.H. (Eds.), 1983. *Animal pain: perception and alleviation*. American Physiological Society, Bethesda, Maryland.
- KITCHELL, R.L. & JOHNSON, R.D., 1985. Assessment of pain in animals. In: *Animal Stress: 113-140* (G.P. Moberg, Ed.). American Physiological Society, Bethesda.
- LACHIN, J.M., 1981. Introduction to sample size determination and power analysis for clinical trials. *Controlled Clinical Trials*, 2: 93-113.
- LANDI, M.S., KREIDER., J.W., LANG, M. & BULLOCK, L.P., 1982. Effects of shipping on the immune function of mice. *Am. J. Vet. Res.*, 43: 1654-1657.
- LANE, D.R. (Ed.), 1980. *Jone's animal nursing*. 3rd edition. Pergamon Press, Oxford.
- LANG, C.M., 1982. *Animal physiologic surgery*. Springer-Verlag, New York.
- LASA, 1990. The assessment and control of the severity of scientific procedures on laboratory animals. Report of the Laboratory Animal Science Association Working Party. *Laboratory Animals*, 24: 97-130.
- LASA/UFAW, 1989. *Guidelines on the Care of Laboratory Animals and their Use for Scientific Purposes: III - Surgical Procedures*. Laboratory Animal Science Association/Universities Federation for Animal Welfare, Potters Bar.
- LAWLOR, M., 1984. Behavioural approaches to rodent management. In: *Standards in laboratory animal management. Proceedings of a LASA/UFAW Symposium: 40-49*. UFAW, Potters Bar.
- LEONARD, E.P., 1968. *Fundamentals of small animal surgery*. W.B. Saunders, Philadelphia.
- LOUIS, T.A., MOSTELLER, F. & MCPEEK, B., 1982. Timely topics in statistical methods for clinical trials. *Annual Review Biophysica and Bioengineering*, 11: 81-104.
- MAFF CODES OF RECOMMENDATIONS FOR THE WELFARE OF LIVESTOCK: *Cattle* (1983), *Pigs* (1983), *Domestic Fowls* (1971), *Sheep* (1977). Ministry of Agriculture Fisheries and Food, Department of Agriculture and Fisheries for Scotland, Welsh Office Agriculture Department.
- MARKOWITZ, J., ARCHIBALD, J. & DOWNIE, H.G., 1964. *Experimental surgery*. 5th Edition. Williams & Wilkins, Baltimore.
- MC SHEEHY, T. (Ed.), 1976. *Control of the animal house environment*. Laboratory Animals Ltd., London.
- MELZAC, R. & WALL, P.D., 1982. *The Challenge of Pain*. Penguin, London.
- MITCHELL, J.P. & LUMB, G.N., 1966. *A handbook of surgical diathermy*. J. Wright & Sons, Bristol.
- MORTON, D.B. & GRIFFITHS, P.H.M., 1985. Guidelines on the recognition of pain, distress and discomfort in experimental animals and an hypothesis for assessment. *Veterinary Record*, 116: 431-436.

- MUDGE, G.H., 1985. Agents affecting volume and composition of body fluids. In: *The pharmacological basis of therapeutics*. 7th Edition (A.G. Goodman, L.S. Goodman, T.W. Rall & F. Murad, Eds.). Macmillan, New York.
- PEACOCK, E.E. & VAN WINKLE, W., 1970. *Surgery and biology of wound repair*. W.B. Saunders, Philadelphia.
- PETERS, A.G. & BYWATER, P.M., 1985. Observations on a method of providing moisture for rats. *Anim. Technol.*, 36(1): 69-75.
- PETO, R., PIKE, M.C., DAY, N. E., GRAY, R.G., LEE, P.N., PARISH, S., PETO, J., RICHARDS, S. & WAHRENDORF, 1980. Guidelines for simple, sensitive significance tests for carcinogenic effects in long-term animal experiments. In: *Long-term and Short-term Screening Assays for Carcinogens: A critical appraisal*. Annex to IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans (Supplement 2). International Agency for Research on Cancer, Lyon.
- PFAFF, J., 1974. Noise as an environmental problem in the animal house. *Lab. Anim.*, 8: 347-354.
- PFAFF, J. & STECKER, M., 1976. Loudness levels and frequency content of noise in the animal house. *Lab. Anim.*, 10: 111-117.
- PHELPS, T., 1981. *Poisonous snakes*. Blandford Press, Poole (Dorset).
- POCOCK, S.J., 1985. Current issues in the design and interpretation of clinical trials. *British Medical Journal*, 290: 39-42.
- POOLE, T.B. (Ed.), 1987. *The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals*. Longman Scientific and Technical, Harlow.
- PORTER, A.R.W., 1982. Drugs for use in dart guns. *Publication of the Veterinary Deer Society*, 1(2): 2-4; also in *RCVS 1984, Guide to Professional Conduct*: 49-51.
- PORTER, G., LANE-PETTER, W. & HORNE, M., 1969. Effects of strong light on breeding mice. *J. Anim. Tech. Ass.*, 14: 117-119.
- PORTER, V. & BROWN, N., 1985. *The complete book of ferrets*. Pelham.
- PRINCE, R.P., WHITAKER, J.H., MATTERSON, L.D. & LUGINBUHL, R.E., 1965. Responses of chickens to temperature and relative humidity environments. *Poultry Sci.*, 4: 73-77.
- PRYOR, K., 1985. *Don't shoot the dog: the new art of teaching and training*. Bantam Books, New York.
- RENTOKIL. *Keeping pests out of business premises*. Rentokil, East Grinstead.
- RILEY, E.P. & MEYER, L.S., 1984. Considerations for the design, implementation and interpretation of animal models fetal alcohol effects. *Neurobehaviour, Toxicology and Teratology*, 6: 97-101.
- ROE, F.J.C. & TUCKER, M.J., 1973. *Recent developments in the design of carcinogenicity tests on laboratory animals*. Excerpta Medica International Congress. Series No 311: 171-177.
- ROLOFF, M.V., 1987. *Human Risk Assessment*. Taylor and Francis, Basingstoke.
- RUSSELL, W.M.S. & BURCH, R.L., 1959. *The Principles of Humane Experimental Technique*. Methuen & Co Ltd, London.
- SALES, G. & PYE, J. D., 1974. *Ultrasonic communication by animals*. Chapman & Hall, London.
- SALES, G.D. & WILSON, K.J., 1986. *Sources of ultrasound on laboratory rodents*. Universities Federation for Animal Welfare, Potters Bar.

- SALSBURG, D., 1987. *Statistics for Toxicologists*. John Wiley and Sons Ltd., London.
- SALTERELLI, C.G. & COPPOLA, R.P., 1979. Influences of visible light on organ weights of mice. *Lab. Anim. Sci.*, 29: 319-322.
- SCHEMNITZ, S.D. (Ed.), 1980. *Wildlife management techniques manual*. 4th ed. The Wildlife Society, Washington DC.
- SEAMER, J. H. & WOOD, M. (Eds.), 1981. *Safety in the animal house*. 2nd ed. Laboratory Animal Handbooks No. 5. Laboratory Animals Ltd., London.
- SHIRLEY, E., 1977. A non-parametric equivalent of Williams' test for the comparison of several doses with a zero dose control. *Biometrics*, 33: 386-389.
- SMITH, M.W. (Ed.), 1984. Report of the working party on courses for animal licensees. *Lab. Anim.*, 18: 209-220.
- 1987. Safety. In: *The UFAW handbook on the Care and Management of Laboratory Animals*. 6th ed. Ch. 11:170-186 (T.B. Poole, Ed.). Longman Scientific and Technical, Harlow.
- SPALDING, J.F., ARCHULETA, R.F. & HOLLAND, L.M., 1969a. Influence of the visible colour spectrum on activity in mice. *Laboratory Animal Care*, 19: 50-54.
- SPALDING, J.F., HOLLAND, L.M. & TIETJEN, G.L., 1969b. Influence of the visible colour in mice. II. Influence of sex, colour and age on activity. *Laboratory Animal Care*, 19: 209-213.
- SPELLERBERG, I.F., 1982. *Biology of the reptiles*. Blackie, Glasgow and London.
- STEINBERG, H. & WATSON, R.H.J., 1960. Failure of growth in disturbed laboratory rats. *Nature*, 185: 615-616.
- STEPHAN, C.E. (Ed.), 1975. In: *Methods for acute toxicity tests with fish, macroinvertebrates and amphibians*. Environmental Protection Agency 660/3-75-009. Natural Environmental Research Centre, Oregon.
- STEYN, D.G., 1975. The effects of captivity stress on the blood chemical values of the Chacma baboon (*Papio ursinus*). *Lab. Anim.*, 9: 11-120.
- STILLE, G., BREZOWSKY, H. & WEIHE, W.H., 1968. The influence of the weather on the locomotor activity of mice. *Arzneimittel-Forschung*, 18: 892-893.
- STOSKOPF, M.A., 1983. The physiological effects of physiological stress. *Zoo Biol.*, 2: 179-190.
- STOTZER, H., WEISSE, I., KNAPPEN, F. & SEITZ, R., 1970. Die retina-degeneration der ratte. *Arzneimittel-Forschung*, 20:811-817.
- SWINDLE, M.M., 1983. *Basic surgical exercises using swine*. Praeger Publishing, New York.
- TARDIFF, R.G. & RODRICKS, J.V., 1987. *Toxic Substances and Human Risk. Principles of Data Extrapolation*. Plenum Press, New York.
- TUCKER, M., 1984. Nutrition - an important factor. In: *Standards in laboratory animal management*. Proceedings of a LASA/UFAW Symposium. UFAW, Potters Bar.
- TURNER, A.S. & MCLWRAITH, C.W., 1982. *Techniques in large animal surgery*. Lea & Febiger, Philadelphia.
- TWIGG, G.I., 1975. Catching mammals. *Mammal Review*, 5: 83-100.
- TYTLER, P. & HAWKINS, A.D., 1981. In: *Aquarium systems* (A.D. Hawkins, Ed.). Academic Press, London.
- UFAW, 1978. *Humane killing of animals*. 3rd ed. UFAW, Potters Bar.
- 1987. *The UFAW handbook on the care and management of laboratory animals*. 6th

- ed. (T.B. Poole, Ed.). Longman Group UK Ltd., Harlow.
- 1990. *Animal training: a review and commentary on current practice*. Proceedings of a Symposium organised by the Universities Federation for Animal Welfare, Potters Bar.
  - VERHOEFF-DE FREMERY, R. & GRIFFIN, J., 1987. Anurans (frogs and toads). In: *The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals: 773-783* (T.B. Poole, Ed.). Longman Scientific and Technical, Harlow.
  - VERHOEFF-DE FREMERY, R., GRIFFIN, J. & MACGREGOR, H.C., 1987. Urodeles (newts and salamanders). In: *The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals: 759-772* (T.B. Poole, Ed.). Longman Scientific and Technical, Harlow.
  - WALLACE, M.E., 1984. The mouse in residence and in transit. In: *Standards in laboratory animal management*. Proceedings of a LASA/UFAW Symposium: 25-39. UFAW, Potters Bar.
  - WARD, C.S., 1975. *Anaesthetic equipment*. Bailliere Tindall, London.
  - WARREN, R.G., 1983. *Small animal anaesthesia*. C.V. Mosby, St. Louis.
  - WAYNFORTH, H. B., 1980. *Experimental and surgical technique in the rat*. Academic Press, London.
  - 1987. Standards of surgery for experimental animals. In: *Laboratory Animals. An introduction for new experimenters: 303-332* (A.A. Tuffery, Ed.). John Wiley & Sons, Chichester.
  - WEIHE, W.H., 1976. The effect of light on animals. In: *Control of the animal house environment*. (T. McSheehy, Ed.) Laboratory Animal Handbooks No.7 Ch. 5: 63-76. Laboratory Animals Ltd., London.
  - WEISS, J. & TAYLOR, G.T., 1984. A new cage type for individually housed laboratory rats. In: *Standards in laboratory animal management*. Proceedings of a LASA/UFAW Symposium: 85-89. UFAW, Potters Bar.
  - WEISSE, I., STOTZER, H., & SEITZ, R., 1974. Age and light-dependent changes in the rat eye. *Virchows archiv fur pathologische anatomie und physiologie und fur klinische medizin*, 362: 811-817.
  - WILLIAMS, D.A., 1972. The comparison of several doses with a zero dose control. *Biometrics*, 28: 519-532.
  - WIND, G.G. & RICH, N.M., 1983. *Principles of surgical technique*. Urban & Schwarzenberg, Baltimore.
  - WINER, B.J., 1971. *Statistical Principles in Experimental Design*. McGraw-Hill, New York.
  - ZIMMERMAN, M., 1986. *Behavioural investigation of pain in animals*. In: *Assessing pain in farm animals: 16-27* (I.J.H. Duncan & V. Molony, Eds.). (Proceedings of 1984 Workshop). Commission of European Communities, Luxembourg.

**NORMATIVA VIGENTE EN EL ESTADO ESPAÑOL**



## NORMATIVA VIGENTE EN EL ESTADO ESPAÑOL

El uso de animales vivos en la experimentación en general ha sido una práctica constante en el desarrollo de investigaciones en ámbitos muy diversos, cuyo abanico comprende tanto la protección de la salud del hombre, animales o plantas, por ejemplo, como la investigación llevada a cabo en el campo de la industria cosmética o de la industria bélica. Esta actuación científica tradicionalmente no demasiado criticada, al menos en España, ya sea por desconocimiento de estas actividades por parte del gran público, ya sea por quedar encubierta bajo justificaciones de progreso humano y científico y bienestar común en general, ha encontrado en los últimos años fervientes detractores tanto en el ámbito de asociaciones protectoras de animales, como en otros sectores sociales que han criticado el uso y sufrimiento de estos seres en los laboratorios. La cada vez mayor preocupación para la protección de los animales vivos y sus derechos ha llevado a los Estados a procurarse también disposiciones específicamente reguladoras del uso de estos seres en los ámbitos experimental y científico. En este sentido puede distinguirse entre normas internas y normas internacionales, manifestándose estas últimas básicamente en la figura de los convenios internacionales. Asimismo no pueden tampoco olvidarse determinadas acciones llevadas a cabo en este mismo sentido en un ámbito «regional» como es el de la actual Unión Europea en el cual sus instituciones han dictado también ciertas disposiciones afectantes al territorio de sus Estados miembros.

De este elenco normativo deben destacarse algunas disposiciones. En primer lugar, y por lo que se refiere a los convenios internacionales, se ha llevado a cabo en el marco del Consejo de Europa el *Convenio europeo sobre protección de los vertebrados utilizados con fines experimentales y otros fines científicos* de 18 de marzo de 1986, ratificado por España y publicado en el B.O.E. de 25 de octubre de 1990, y que se encuentra en vigor para nuestro

país desde el 1 de enero de 1991. Respecto a este texto el propio Consejo de la Comunidad Europea emitió una Resolución de fecha de 24 de noviembre de 1986 (DOCE n° C 331 de 23.12.86, p. 1) por la que solicitaba a los Estados miembros que firmaran en el plazo más breve posible el mencionado Convenio (firma que España llevó a cabo el 11 de agosto de 1988). Por lo que se refiere a sus disposiciones, debe partirse de que sus beneficiarios son los animales vertebrados vivos no humanos, incluidas las formas larvarias, autónomas y /o con capacidad para reproducirse. El principio general que expresa el Convenio es el de respeto a todos los animales, otorgando especial protección a todos aquellos que se destinan a fines experimentales y científicos (para lo cual exige particulares requisitos cuando estamos ante procedimientos practicados con fines de enseñanza o reciclaje -art. 25-). También resulta de interés el hecho de que en su artículo 2 se establecen las finalidades que justifican el uso de estos animales en algún procedimiento, y en el artículo 6, la limitación del uso de estos seres solamente para aquéllos donde resulte imposible llevarlos a cabo de otro modo para obtener un resultado científicamente satisfactorio. Además, en el artículo 29 se incluye el reconocimiento de los procedimientos practicados en el territorio de otro Estado parte del Convenio a fin de evitar repeticiones innecesarias de los mismos.

También el texto incorpora el principio de eliminación del dolor por medios anestésicos o analgésicos (art. 8.1), principio que, sin embargo, queda excepcionado en los casos en que el uso de estos medios comporte al animal un malestar superior al del propio procedimiento, o que dicha utilización sea incompatible con la finalidad del procedimiento, en cuyo caso aquél deberá declararse y justificarse expresamente ante la autoridad responsable a fin de evitar que se ejecute innecesariamente (art. 9).

También debe destacarse que se establecen disposiciones tendentes al sacrificio de estos animales una vez hayan sido objeto de experimentación, especialmente en aquellos casos en que sufrirá dolores o angustia duraderos (art. 11). Junto a estos principios, debidamente desarrollados en el texto convencional, se establecen otras disposiciones cuya finalidad es bien regular los requisitos que deben reunir tanto los establecimientos de cría o proveedores, como los usuarios, o bien establecer directrices en determinadas materias como son las relativas al alojamiento y cuidados de los animales o a las condiciones para su enjaulamiento. También resulta destacable la previsión del artículo 34.1 en cuanto introduce una prohibición a los Estados firmantes de formular reservas a los artículos más especialmente dirigidos a eliminar el sufrimiento de los animales en la experimentación.

Paralelamente a estas disposiciones convencionales, pero ya en el ámbito de la Comunidad Europea, resalta la existencia de la Directiva 86/609/CEE de 24 de noviembre de 1986 relativa a la *aproximación de disposiciones legales, reglamentarias y administrativas de los Estados miembros respecto a la*

*protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos* (DOCE nº L 358 de 18.12.1986, p. 1 y ss), y que ha sido transpuesta al ordenamiento español mediante el Real Decreto nº223/1988 de 14 de marzo de 1988, (BOE de 18.3.1988). La finalidad de este texto es, como en el caso del Convenio del Consejo de Europa, procurar la protección de dichos animales, pero nótese que en este caso el ámbito material no se circunscribe a los animales vertebrados, sino a los animales en general, pretendiéndose asimismo, al menos en el Real Decreto español de transposición, la reducción del número de animales empleados en este número de procedimientos (objetivo apuntado también por el Parlamento Europeo en su resolución de 12 de septiembre de 1986 -DOCE nº C 255 de 13.10.86, p. 262-263). En realidad, la finalidad perseguida por la Comunidad mediante esta directiva es análoga a la pretendida por el Consejo de Europa, localizándose disposiciones homónimas en ambos textos, tanto en lo que se refiere a requisitos de fondo (con qué finalidades se permite la experimentación con animales, cómo debe llevarse a cabo, sacrificio posterior del animal, aplicación del principio de menor sufrimiento, etc.), como de forma (exigencia de autorización y supervisión administrativa respecto a la realización de ciertos experimentos, requisitos de los establecimientos de cría y suministradores, etc.), existiendo sin embargo alguna peculiaridad adicional, como es por ejemplo la mención expresa, en el artículo 4, a la experimentación en animales considerados en peligro de extinción, para los cuales se establecen limitaciones especialmente rigurosas.

Asimismo, a nivel comunitario se ha creado, en ejecución del artículo 22.3 de la Directiva antes mencionada, un Comité consultivo sobre la protección de los animales utilizados para al experimentación y otros fines científicos cuya misión es ayudar a la Comisión en asuntos relacionados con la aplicación de la mencionada Directiva (DOCE nº L 44 de 20.2.90, p. 30-31).

Por último, no puede tampoco omitirse la referencia a una resolución y una pregunta escrita formulada por un miembro del Parlamento Europeo. En cuanto a la primera, se trata de la resolución de los representantes de los Gobiernos de los Estados miembros de las Comunidades Europeas, reunidos en el seno del Consejo de 24 de noviembre de 1986 (DOCE nº C-331 de 23.12.86, p. 2) por la que se comprometen a utilizar los animales para experimentación a los únicos fines señalados en el propio texto, y por lo que se refiere a la enseñanza y formación realizar los experimentos *principalmente* en Universidades u otras instituciones de enseñanza de nivel equivalente, comprometiéndose en limitar al *mínimo estricto necesario* los experimentos llevados a cabo en centros de enseñanza secundaria. En cuanto a la pregunta escrita se trata de la nº 573/89 de 24 de octubre de 1989, planteada por el Sr. Michael Welsh a la Comisión, y que expresa su preocupación en relación a la exportación de perros galgos de Gran Bretaña e Irlanda a España, donde según la cuestión formulada, se les utiliza con fines experimentales sin que

hayan obtenido una autorización general o especial en el sentido planteado en el artículo 21 de la Directiva de 1986. La respuesta de la Comisión se limita a señalar que en ningún caso se le ha informado de que España haya establecido ninguna excepción en cuanto a la obtención de animales procedentes de establecimientos distintos a los previstos en la Directiva.

Finalmente, en el ámbito español, la normativa existente en la actualidad es parca en alusiones a la experimentación con animales, de tal manera que se concentra básicamente en tres textos que son el Convenio del Consejo de Europa mencionado, el R.D. de 1988 anteriormente citado, y que es consecuencia de la transposición de la Directiva comunitaria de 1986, y la Orden del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación de 13 de octubre de 1989 que desarrolla el anterior R.D. (BOE de 18 de octubre de 1989). Por lo que se refiere al R.D. introduce en el ámbito español las disposiciones de la directiva comunitaria, debiendo sin embargo destacarse determinados aspectos básicamente competenciales en el orden administrativo. De esta manera, es de resaltar el reconocimiento de competencias en cuanto a notificaciones y en su caso autorizaciones a los organismos propios de las Comunidades Autónomas (art. 4), de tal manera que, por ejemplo, ante un supuesto de experimentación que deba llevarse a cabo sin anestesia (art. 12), la notificación deberá realizarse a las autoridades de la Comunidad Autónoma en cuestión. De todas las notificaciones y registros llevados a cabo en su ámbito competencial territorial, las diferentes Comunidades Autónomas deberán proceder a una comunicación trimestral al Ministerio de Agricultura, el cual resulta ser el único competente para recibir notificaciones, proceder al registro o conceder autorizaciones de/a los establecimientos de cría, suministradores y usuarios de titularidad estatal (art. 4.2). Debe, respecto de este Real Decreto, destacarse la ausencia de previsiones sancionadoras en el caso de incumplimiento de sus disposiciones, inclusión que hubiera resultado oportuna como medida disuasoria de posibles infracciones a su articulado, y en definitiva a sus finalidades.

En cuanto a la orden de 13 de octubre de 1989 tiene por finalidad establecer las normas de registro de los establecimientos de cría, suministradores y usuarios de animales de experimentación de titularidad estatal, a los cuales se impone la obligación trimestral de notificar a la Dirección General de Producción Agraria del Ministerio de Agricultura los experimentos que se propongan realizar.

Esta débil protección que se observa a nivel estatal con respecto a la utilización de animales para experimentación, no ha sido por lo general tratada de forma más idónea y completa por las Comunidades Autónomas con competencias normativas y ejecutivas en el sector. De forma general puede afirmarse que las Comunidades Autónomas, en el caso de haber aprobado normas sectoriales de protección de animales, o bien han omitido toda

referencia al respecto, o bien han optado por otras vías que pueden ejemplificarse en tres supuestos muy concretos: algunas Comunidades han optado por realizar una remisión en bloque a la ordenación estatal anteriormente comentada<sup>1</sup>, en otros casos se ha elegido la vía de prohibir, y consecuentemente sancionar, determinadas ventas de animales a laboratorios con omisión de la preceptiva autorización administrativa<sup>2</sup>, y, finalmente, otra opción a la que se ha recurrido en alguna Comunidad Autónoma es la de elaborar, o comprometerse a elaborar, una normativa propia en materia de experimentación con animales<sup>3</sup>. Sería altamente deseable pues, de *lege ferenda*, que mediante futuras modificaciones a su articulado, las Comunidades Autónomas introdujesen una regulación más cuidadosa de esta materia.

De todo cuanto antecede pueden señalarse algunas conclusiones básicamente comunes a los distintos textos y que se perfilarían en el sentido de que se permite el uso de animales para la experimentación, siempre que ésta tenga por objeto determinadas finalidades básicamente destinadas a preservar

---

<sup>1</sup> Vid. por ejemplo art. 4.3 de la ley de la Comunidad Autónoma de Cantabria de 18 de marzo de 1992 sobre protección de animales (B.O. de Cantabria de 27 de marzo de 1992) cuando establece «*en cuanto a la protección de los animales utilizados para experimentación y fines científicos se estará a lo señalado por el R.D. 223/1988 de 14 de marzo*». En el mismo sentido se expresa el art. 9.2 del Decreto de 30 de abril de 1992 de la misma Comunidad que incorpora el Reglamento para la protección y desarrollo de la Ley de protección de los animales.

<sup>2</sup> Este es el supuesto de la Comunidad Autónoma de Baleares donde mediante la ley 1/1992 de 8 de abril de 1992 sobre protección de animales y plantas que viven en el entorno humano (B.O. de les Illes Balears de 14 de mayo de 1992) se prohíbe en el art. 3.j «*venderlos o cederlos a laboratorios, clínicas y particulares, al objeto de su experimentación, sin la correspondiente autorización y supervisión, cuando así se estime oportuno de la Consellería de Agricultura y Pesca*». Nótese en este caso la anómala redacción de la prohibición. Asimismo, en la propia ley balear el art. 46.2.g califica como infracción grave «*la venta a laboratorios, clínicas u otros establecimientos para experimentación, sin autorización de la Consellería de Agricultura y Pesca*», cuantificándose en el art. 48.1 las sanciones graves con multa de 50.001'- a 250.000'- pts.

<sup>3</sup> Tal es el caso de la Comunidad Autónoma de Cataluña, la cual en el texto de la ley 3/1988 de 4 de marzo sobre protección de los animales (D.O.G.C. de 18 de marzo de 1988) estableció en su disposición adicional segunda que «*antes de 1992 el Gobierno de la Generalitat debe presentar al Parlament un proyecto de ley de la vivisección, la experimentación científica con animales vivos y la utilización de animales vivos para controles analíticos. Este proyecto debe inspirarse en el principio de prohibición de estas prácticas siempre que exista algún método in vitro de coste comparable y de fiabilidad reconocida*». En la actualidad ya se ha elaborado una primera redacción de dicho proyecto de ley que si bien aún no ha sido presentado al Parlament, se encuentra ya en fase de estudio por parte tanto de servicios jurídicos como de las partes que de alguna forma resultan implicadas por sus disposiciones (cuidadores, suministradores, usuarios, asociaciones proteccionistas, etc.). De la actual redacción del proyecto de ley catalán pueden destacarse determinadas características como son la creación de comités éticos respecto a la experimentación con animales, el fomento de técnicas alternativas, la opción por la no repetición de procedimientos, la regulación del uso de animales con fines experimentales en colectivos con finalidades educativas (institutos, universidades, etc. ) y la previsión, tipificación y cuantificación de sanciones para el caso de incumplimiento de sus disposiciones. Mediante esta regulación, y de prosperar la actual redacción del proyecto de ley, parece en un primer momento que la Comunidad Autónoma opta por una regulación más completa que la llevada a cabo a nivel estatal.

y mejorar la salud y bienestar humanos, así como de los animales y el medio ambiente, dirigiéndose la normativa hacia el objetivo de reducir tanto el número de experimentos como el número de animales utilizados en los procedimientos, así como tratando de evitar, en tanto en cuanto la experimentación lo permita, el sufrimiento físico y psíquico. Para garantizar la consecución de todas estas finalidades, se establecen unos requisitos de comunicación a la Administración, para lo cual se señalan las autoridades competentes en la materia. Estas serán las encargadas ejercer funciones de policía (autorización, inspección, sanción,...) tanto respecto a los establecimientos de cría, suministro y uso de animales con fines experimentales (pues sólo serán los animales procedentes de estos establecimientos, que deben reunir determinadas características, los que podrán utilizarse con tal finalidad), como respecto a la autorización de experimentos que comporten un especial dolor a los animales utilizados (básicamente aquéllos para los cuales no puedan utilizarse anestesia o analgésicos).

Isabel Pont Castejón  
Profesora de Derecho Administrativo  
de la Universidad Autónoma de Barcelona

José Ma. de Dios Marcer  
Profesor de Derecho Internacional Privado  
de la Universidad de Girona

abril 1994