

Manejo de animales de laboratorio. Revisión bibliográfica

(Management of laboratory animals. Bibliographic review)

Raisa Rodríguez Duque^{(1)*} <http://orcid.org/0000-0003-3660-954X>, raisa.rodriguez@esPOCH.edu.ec
Regla Cristina Valdés Cabodevilla⁽¹⁾ <http://orcid.org/0000-0002-2513-8861>, regla.valdes@esPOCH.edu.ec
Susana del Pilar Pino Burgos⁽¹⁾ <http://orcid.org/0000-0001-8595-410X>, susana.pino@esPOCH.edu.ec

(1) Carrera de Medicina, Facultad Salud Pública, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador

*Correspondencia: Dra. Raisa Rodríguez Duque, Carrera de Medicina, Facultad Salud Pública, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Panamericana Sur km ½ EC060106, Riobamba, Ecuador, e-mail: raisard2979@yahoo.es

Recibido el 28.05.2020. Aceptado el 30.08.2020

RESUMEN

Introducción: La utilización de animales de laboratorio ha ido en paralelo al desarrollo de la biomedicina. Conocer su manejo es indispensable para el desarrollo de la investigación. **Objetivo:** Describir el uso y manejo correcto de los animales de laboratorio. **Metodología:** El presente trabajo es una revisión narrativa de la literatura. Los recursos se recuperaron en las bases de datos, lo que incluye PubMed, ScienceDirect, WOS, ProQuest e IEEE. **Resultados:** Se incluyeron 30 estudios, los cuales abordan distintos temas en cuanto al uso y manejo de animales de laboratorio. **Discusión:** El desarrollo de la medicina, veterinaria, odontología ha ido de la mano con el empleo de los animales en el laboratorio. En contraposición de lo que ocurre en otras zonas geográficas donde se incentiva el uso de alternativas a la experimentación animal, en países latinoamericanos la utilización de animales de es cada vez mayor. Si se usan animales de experimentación, deben manejarse con principios éticos. Debe constituir una prioridad que los animales sean bien cuidados en cada una de las etapas iniciando desde el nacimiento hasta su muerte, se les debe asegurar el bienestar durante el proceso de crianza, subsistencia y en el de la experimentación. **Conclusiones:** La utilización de animales de experimentación de hacerse de manera ética y siempre y cuando no exista otra alternativa y la intención de su uso esté asociada a la consecución de un bien mayor.

Palabras clave: Bioterio, experimentación animal, ratón, ética

ABSTRACT

Introduction: The use of laboratory animals has paralleled the development of biomedicine. Knowing its handling is essential for the development of research. **Objective:** Describe the correct use and handling of laboratory animals. **Methodology:** The present work is a narrative review of the literature. Resources were retrieved from databases, including PubMed, ScienceDirect, WOS, ProQuest, and IEEE. Results: 30 studies were included, which address different issues regarding the use and management of laboratory animals. **Discussion:** The development of medicine, veterinary medicine, and dentistry has gone hand in hand with the use of animals in the laboratory. In contrast to what happens in other geographical areas where the use of alternatives to animal experimentation is encouraged, in Latin American countries the use of animals is increasing. If experimental animals are used, they must be handled with ethical principles. It should be a priority that the animals are well cared for in each of the stages, starting from birth to death, their well-being must be ensured during the breeding, subsistence and experimentation process. **Conclusions:** The use of experimental animals should be done ethically and as long as there is no other alternative and the intention of its use is associated with the achievement of a greater good.

Keywords: bioterium, animal experimentation, mouse, ethics

1. Introducción

Es importante conocer los aspectos fundamentales a considerarse en cuanto al uso y manejo de los animales de laboratorio, lo que incluye cambios de jaula, movimientos de la sala de reposo a la de experimentación, normas éticas y de bioseguridad del personal que maneja a los animales, supervisión del estado de salud, toma de muestras, entre otras. Es importante abordar estos factores de forma adecuado por cuanto alteran el estado de homeostasis y pueden alterar las variables fisiológicas y comportamentales de los animales.(1,2)

En el comportamiento de los animales de laboratorio intervienen muchas variables entre ellas el manejo diario y la aclimatación antes del procedimiento a fin de que tanto el personal como los animales se habitúen para minimizar situaciones de estrés, los animales forman lazos emocionales y reconocen a las personas que los manejan, pero también reaccionan ante situaciones y estímulos desconocidos.(3,4)

Estudios cuasi experimentales o experimentales realizados como parte de procesos de aprendizaje e investigación biológica, biomédica, control de medicamentos, alimentos y otros insumos importantes para la salud humana y animal, requieren de la utilización de animales de laboratorio. El empleo de animales en la investigación involucra responsabilidad de quien los manipula, por tanto, es un deber darles un trato y cuidado apropiado. Es un deber de los cuidadores evitar la crueldad y procurar su bienestar durante su cautiverio y previo a su utilización en el laboratorio.(5)

En cuanto a las regulaciones éticas, se han propuesto algunas estrategias en el uso de animales para la investigación. Russell y Burch introdujeron "las tres R": Reducir el número de animales empleados. Reemplazar el animal vivo por otras técnicas alternativas experimentales. Refinar las técnicas para minimizar el sufrimiento del animal. Con el fin de disminuir al máximo el sufrimiento del animal o el daño posible.(6,7)

En nuestro medio, pocos estudios hablan sobre el uso y manejo de animales de investigación,

en parte porque un número muy limitado de personal especializado en la cría y el cuidado de los animales. El hecho de tener conocimientos sobre el manejo adecuado de los animales de experimentación garantizará el manejo ético de los mismos, así como la calidad científica de las investigaciones que se realicen. El objetivo del presente trabajo de investigación es describir el uso y manejo correcto de los animales de laboratorio.

2. Metodología

2.1 Palabras clave

La información para el presente trabajo de investigación se ha recuperado en consideración de las palabras claves: bioterio, laboratorio, rata, ratón, roedores, y en inglés bioterium, laboratory, rat, mouse, rodents.

2.2 Bases de datos

Se realizó una revisión bibliográfica de artículos publicados en revistas con revisiones por pares indexadas en las bases de datos: SciELO, MedLine/PubMed/PMC y Scopus, actividad que permitió analizar e interpretar la información más actualizada de los datos recolectados.

2.3 Criterios de selección

Para la selección de artículos se tomaron los siguientes criterios: a) Tipo de estudio: estudios transversales, longitudinales, ensayos clínicos, revisiones subjetivas, revisiones sistemáticas y metaanálisis, que proporcionaron información sobre animales de experimentación. Se excluyeron las cartas al editor o director, artículos breves de opinión, casos clínicos y resúmenes. Se consideraron artículos publicados entre 2000 y 2020.

3. Resultados

Al inicio de la búsqueda se seleccionaron 70 artículos, de los cuales se excluyeron aquellos que no cumplieron con los criterios de inclusión antes señalados, en total 30. Finalmente se procedió a analizar a profundidad 40 estudios, que abordaron distintos temas en cuanto al uso y manejo de animales de laboratorio.

4. Discusión

Un animal de laboratorio es todo aquel ser vivo, no humano, vertebrado o invertebrado, usado para la experimentación y otros fines científicos.(8,9) Su uso en la historia de la humanidad se ha correspondido con el desarrollo de la medicina, veterinaria, odontología y demás ciencias biológicas. Según el Consejo Nacional de Investigación y el Comité del Instituto de Medicina de los estados unidos de Norteamérica, la similitud orgánica y funcional de los seres humanos con los animales de laboratorio, fundamenta su uso, sobre todo de roedores, especialmente de las ratas, los ratones, los conejos y los cobayos.(10)

El uso de animales de laboratorio debe estar regido por principios éticos.(6,7,11-15) De esta manera, se propone la aplicación del principio de las tres R planteado por Russell y Burch. Aunque este principio se practica en la mayoría de los laboratorios, en países latinoamericanos su utilización es cada vez mayor, contradiciendo la lógica de otras zonas geográficas donde la tendencia es hacer uso de alternativas a la experimentación animal, entre otras cosas debido a las exigencias de los principios éticos actuales, lo costoso de su reproducción y mantenimiento, entre otras razones.(16-19)

4.1 Aspectos éticos

La ética, debe aplicarse tanto a seres humano como a animales, bajo sus normas deben procurarse que se cumplan condicionantes como el respeto por la vida, al dolor y al sufrimiento. (6) Se puede afirmar que la investigación biomédica en animales es admisible éticamente, cuando se cumple con el principio de las tres R de la experimentación, "Reducir al máximo el número de ellos y el total de animales utilizados en investigación, Reemplazar siempre que sea posible el animal de experimentación por otro modelo experimental y Refinar los métodos y técnicas utilizados de modo que produzcan al animal el menor sufrimiento posible"; propuesta por William Russell y Rex Burch en 1959.(17)

Basados en estos postulados, se han ido puliendo las circunstancias en que se emplean los animales de experimentación, con la finalidad

de lograr progresos en el ambiente en que se desarrollan y provocarle satisfacción a través de medidas que se uniformicen los procedimientos y que se implementen políticas de regulación nacionales e internacionales y se tengan en cuenta lineamientos de determinados organismos y entidades internacionales consagradas al estudio de los animales de laboratorio, tanto como a su protección y seguridad.(20-25)

Cuando en la investigación se utilizan animales de laboratorio hay que tener en cuenta eso porque no hay otra opción y se busca siempre un mayor beneficio. Indudablemente, las instituciones que posean laboratorios y proyectos científicos que precisen del uso de estos animales, tendrían que obtener la aprobación de comités nacionales de cuidado y uso de animales de laboratorio (CICUAL). En su ausencia se regirían por normas internacionales al respecto.

Este comité (CICUAL) tendría que verificar, revisar y aprobar dichos proyectos, asegurando el adecuado uso del bioterio, controlar el estado de salud animal y que su manipulación sea lo más ética posible, sin acciones inhumanas; por lo que el personal que trabajaría con los animales estuviese acreditado para ello mediante certificado que avale su correcta formación y experiencia.(9) También se sugiere que haya tenido entrenamientos con un veterinario y un miembro de la sociedad protectora de animales. (26-30)

4.2 Condiciones físicas del ambiente o escenario

El sitio donde se albergan los animales de experimentación se denomina bioterio o animalario, y es aquella instalación o escenario donde se realizan las actividades de crianza, sostenimiento, cuidado y utilización de los animales de laboratorio.(29,30) El investigador debe analizar la ubicación de los animales que utilizará en el experimento para lo cual debe tomar en cuenta factores como: las condiciones del ambiente, la comodidad en el que se desarrollarán los animales con el fin de garantizar el mantenimiento de los patrones metabólicos y del comportamiento, que además se mantengan los estándares fisiológicos para de esta manera garantizar resultados fidedignos y confiables.(31,32)

El bioterio debe estar dividido en áreas y en ellas deben estar separadas dos áreas en concreto, la una que corresponde al área sucia que constará de la parte administrativa, zona de vestuario, almacenamiento, eliminación de desechos e incineración y otra la considerada área limpia en la que deberá constar del lugar para la recepción de los animales, alojamiento, cuarentena, crianza, quirófano, así como también la zona de limpieza y esterilización, para lo cual se debe contar con personal que tenga conocimiento de las funciones para que esté preparado a solventar las necesidades de los animales.

Las áreas deben ser separadas por barreras físicas, y el flujo de trabajo se establece desde la zona limpia a la sucia. Además, en todas las áreas se tienen que seguir estrictas condiciones de higiene, limpieza, desinfección y estar perfectamente señalizadas.(31) Las características y ventilación de las habitaciones, así como la cantidad de individuos en cada jaula y tipo de lecho; la calidad de la dieta y del agua que consumen, su manera de administrarla; los parásitos; la temperatura y humedad, también la composición del aire; la iluminación inadecuada y realmente el mismo hecho experimental, son elementos del medio ambiente que perjudican a los animales.

Es conocido que, para evitar estrés en el ratón, su confinamiento o encierro primario, que está restringido al ámbito de la jaula (metálicas o plásticas con tapas de acero inoxidable), el alimento y el agua bebida; debe proporcionarle al animal bienestar suficiente para que su desenvolvimiento y actuación sean normales. Además, hay que cuidar que se mantengan condiciones higiénicas y de protección contra insectos, depredadores y otras plagas.(32)

Se recomienda que la cantidad de animales en cada jaula dependerá del tamaño, edad, estado pre y postnatal del ratón; por lo que esta deberá ser como mínimo de 80 cm² por cada ratón adulto.(33,34) El animal necesita para su movimiento una superficie suficientemente amplia y sin impedimentos para expresar las posiciones normales de comportamiento sin irritarse, con acceso fácil al agua y la comida según su deseo; así como lecho higienizado para reposar.(1)

Cuando la limpieza y desinfección de las cajas donde los animales se alojan está asegurada y fiscalizada la humedad relativa, así como el flujo de aire fresco, la cantidad de luz apropiada, que no haya contaminación por ruidos ni olores, ni temperaturas molestosas, se ha garantizado su microambiente. El recurso humano estará en proporcionalidad al bienestar animal, para ello se necesita imperiosamente que el personal tenga una capacitación consistente.

4.3 Técnicas para la manipulación de los animales

El manejo de un animal deberá realizarse con una completa seguridad, se debe prestar atención en algunos detalles, con el objetivo de asegurar el bienestar animal, evitando estrés, miedo y daño.(35,36) Los siguientes aspectos que deben considerarse en cuanto al manejo de animales de laboratorio:

- Crear un espacio de tranquilidad y orden.
- Manejar a los animales de forma firme pero suave.
- No hacer ruidos con los materiales (jaulas, rejas, carros).
- No realizar movimientos bruscos; dejar que los animales se acerquen a nuestra mano.
- No usar perfumes.
- Hablar solo lo estrictamente necesario y en voz baja.
- Desinfectar guantes y superficies con frecuencia.
- No levantar a los animales por la punta de la cola.
- No dejar colgando el animal sin apoyo porque se dará vuelta y lo morderá.
- Pedir ayuda a un asistente siempre que sea posible.

4.3.1 Manejo de ratones

Las ratas se habitúan mejor al personal manipulador, sin embargo, los ratones se familiarizan rápidamente si se manipulan con pericia, considerando que pueden lastimarse fácilmente.

te al sujetarlos debido al tamaño pequeño que poseen. Dicha manipulación debe hacerse con una mezcla de seguridad y delicadeza, logrando la inmovilización de ellos. En su traslado de un sitio a otro, no afecta tanto la forma de agarrarlo, siempre y cuando se tenga en cuenta el estado de salud y la edad del ratón.

Es recomendable, iniciar la manipulación como se indica a continuación:

- Aproxímese apaciblemente al animal.(37)
- Tome al ratón por la zona media de la cola.
- Sáquelo de la jaula y descanse sus patas delanteras sobre la superficie rugosa para que se agarre.
- Ponga la base de la cola entre sus dedos anular y meñique.
- Con prontitud agarre, haga un pliegue en la piel entre el cuello y los hombros con los dedos índice y pulgar.
- Finalmente, eleve al animal.

4.3.2 Salud del personal manipulador y de los animales

El personal responsable en el bioterio debe valorar el estado de salud de los animales de manera periódica, como parte de sus obligaciones legales y morales, hacia los animales, así como para garantizar resultados fiables y repetibles. La evaluación microbiológica y parasitológica es imprescindible, teniendo en cuenta el peligro para la salud del animal tanto como del personal manipulador.

Entre los microorganismos con mayor peligro para el bienestar animal se encuentran:

- Virus: Hanta y el de coriomeningitis linfocítica.
- Bacterias: *Campylobacter* spp, *Salmonella* spp., *Helicobacter* spp., *Yersinia enterocolitica*, *Mycobacterium tuberculosis* *Vibrio* spp., *Mycoplasma* spp., *Leptospira* spp., *Listeria* spp. y *Streptobacillus moniliformis*.
- Hongos: *Microsporum*, *Trichophyton* y *Epidermophyton*.

• Parásitos: *Leishmania*, *Tripanosoma*, *Toxoplasma*, *Fasciola* y *Schistosoma*.(38-40)

5. Conclusiones

La utilización de animales de experimentación es ética siempre que no exista alguna otra alternativa y la intención esté asociada a la consecución de un bien mayor. El recurso humano estará en proporcionalidad al bienestar animal, para ello se necesita imperiosamente que el personal tenga una capacitación consistente. Debe constituir una prioridad que los animales sean bien cuidados en cada una de las etapas iniciando en el nacimiento hasta su muerte, se les debe asegurar el bienestar durante el proceso de crianza, subsistencia y en el de la experimentación.

Agradecimientos

Los autores agradecemos a las autoridades de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH) por el magnífico liderazgo que garantiza la formación profesional y de investigadores, a la Facultad de Salud Pública por organizar eventos científicos de alta categoría e impulsar la creación y desarrollo de sitios de publicación, a la revista CSSN por permitirnos contribuir con nuestro trabajo, a la construcción y desarrollo sustentable de la sociedad del buen vivir, a nuestros colegas por su paciencia y colaboración.

Conflicto de interés

Las autoras del trabajo declaran no tener conflicto de interés en la realización, resultados y veracidad de la información.

Limitación de responsabilidad

Los puntos de vista expresados en el presente trabajo son de entera responsabilidad de las autoras y no de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, institución en la que prestan los servicios como profesionales de la docencia.

Fuentes de apoyo

Para el desarrollo del trabajo investigativo no se contó con fuentes de financiamiento externo, se realizó con el autofinanciamiento de las autoras.

Referencias bibliográficas

1. Castelhana-Carlos MJ, Baumans V. The impact of light, noise, cage cleaning and in-house transport on welfare and stress of laboratory rats. *Lab Anim* [Internet]. 2009;43(4):311-27. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19505937/>
2. Balcombe JP, Barnard ND, Sandusky C. Laboratory routines causes Animal Stress. *Contemp Top Lab Anim Sci* [Internet]. Nov 2004;43(6):42-51. Disponible en: <https://www.psychologytoday.com/files/attachments/41209/lab-routines-cause-animal-stresspdf.pdf>
3. Brudzynski S, Ociepa D. Ultrasonic vocalization of laboratory rats in response to handling and touch. *Physiol Behav* [Internet]. 1992;52(4):655-60. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1409936/#:~:text=The%20long%20latencies%20of%20the,reflect%20physical%20discomfort%20or%20pain.>
4. Costa R, Tamascia ML, Nogueira MD, Casarini DE, Marcondes FK. Handling of Adolescent Rats Improves Learning and Memory and Decreases Anxiety. *J Am Assoc Lab Anim Sci* [Internet]. 2012;51(5):548-53. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3447442/#:~:text=The%20present%20study%20showed%20that,compared%20with%20the%20control%20group.>
5. Swennes AG, Alworth LC, Harvey SB, Jones CA, King CS; Crowell-Davis SL. Human Handling Promotes Compliant Behavior in Adult Laboratory Rabbits. *J Am Assoc Lab Anim Sci* [Internet]. 2011;50(1):41-5. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3035402/>
6. Mrad de Osorio A. Ética de la investigación con modelos animales experimentales. Alternativas y las tres R de Russel. Una responsabilidad y un compromiso ético que nos compromete a todos. *Revista Colombiana de Bioética* [Internet]. 2006;1:163-83. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=189217283010>
7. Sánchez F. Ética en investigación biomédica. *Nómadas* [Internet]. 2000;13:199-208. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/1051/105115264016.pdf>
8. Guillen J. FELASA guidelines and recommendations. *J Am Assoc Lab Anim Sci* [Internet]. 2012;51(3):311-21. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3358979/>
9. Smith JA, van den Broek FAR, Martorell JC, Hackbarth H, Ruksenas O, Zeller W, et al. Principles and practice in ethical review of animal experiments across Europe: summary of the report of a FELASA working group on ethical evaluation of animal experiments. *Lab Anim* [Internet]. 2007;41(2):143-60. Disponible en: <http://www.felasa.eu/working-groups/reports/principles-and-practice-in-ethical-review-of-animal-experiments-across-euro/>
10. National Research Council (US) and Institute of Medicine (US) Committee on Use of Laboratory Animals in Biomedical and Behavioral Research. *Use of Laboratory Animals in Biomedical and Behavioral Research*. Washington, D.C.: National Academy Press (US) [Internet]; 1988. Disponible en: <https://www.nap.edu/catalog/1098/use-of-laboratory-animals-in-biomedical-and-behavioral-research>
11. Bayne K, Anderson LC. *Laws, Regulations and Policies Affecting the Use of Laboratory Animals*. Laboratory Animal Medicine [internet]. 3 ed. San Diego: Elsevier. 2015. ps. 23–42. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B978012409527400002X>

12. Laferriere CA, Pang DSJ. Review of intraperitoneal sodium pentobarbital injection as a method of euthanasia in laboratory rodents. JAALAS [Internet]. 2020;59(3):254-263. Disponible en: <https://www.ingentaconnect.com/content/aalas/jaalas/2020/00000059/00000003/art00002>
13. Gaskill BN, Gordon CJ, Pajor EA et al. Calor o aislamiento: valoración conductual de la preferencia del ratón por el calor o el acceso a un nido. PLOS ONE [Internet]. 2012;7(3):e32799. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22479340/>
14. Reynolds RP, Kinard WL, Degraff JJ et al. Ruido en una instalación de animales de laboratorio desde la perspectiva humana y del ratón. J Am Assoc Lab Anim Sci [Internet]. 2010;49: 592–7. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2949429/>
15. Baker DG y Lipman NS. Factores que pueden influir en la investigación con animales. Laboratory Animal Medicine [internet]. 3 ed. San Diego: Elsevier; 2015. ps. 1441–96. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/book/9780124095274/laboratory-animal-medicine#book-info>
16. PHS Policy on Humane Care and Use of Laboratory Animals. National Institutes of Health: Office of Laboratory Animal Welfare. 2015 [Internet]. Disponible en: <https://olaw.nih.gov/policies-laws/phs-policy.htm>
17. Russell WMS, Bursh RL. The Principles of Humane Experimental Technique. London: Methuen, London; 1959. Disponible en: <http://117.239.25.194:7000/jspui/bitstream/123456789/1342/1/PRILIMINERY%20%20AND%20%20CONTENT%20S.pdf>
18. Guillen J. FELASA guidelines and recommendations. J Am Assoc Lab Anim Sci [Internet]. 2012;51(3):311-21. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3358979/>
19. Giráldez A. Breve historia de la experimentación animal. Lecturas Singulares 6. Real Academia Nacional de Farmacia. Instituto de España. Madrid; 2008. p. 268. Disponible en: http://bibliotecavirtual.ranf.com/es/catalogo_imagenes/grupo.do?path=6025034
20. Turner PV, Pekow C, MacArthur J, Vergara P et al. Roles of the International Council for Laboratory Animal Science (ICLAS) and International Association of Colleges of Laboratory Animal Medicine (IACLAM) in the Global Organization and Support of 3Rs Advances in Laboratory Animal Science. Journal of the American Association for Laboratory Animal Science [Internet]. 2015;54(2):174–180. Disponible en: <https://www.ingentaconnect.com/content/aalas/jaalas/2015/00000054/00000002/art00009?crawler=true&mimetype=application/pdf>
21. Victoria Amador MC, Morón Rodríguez FJ. Bioética en experimentación animal para validar usos de plantas medicinales en el Laboratorio Central de Farmacología. Rev Cubana Plant Med [Internet]. 2010 Sep [citado 2020 Sep 08]; 15(3): 157-168. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962010000300008&lng=es.
22. Universities Federation of Animal Welfare (UFAW). The UFAW manual on the care and management of laboratory animals and other research animals. 8 ed. Hubrecht RC, Kirkwood J, editores. Oxford: Wiley-Blackwell. 2010. Disponible en: [https://books.google.com.ec/books?hl=es&lr=&id=Wjr9u1AAht4C&oi=fnd&pg=PR5&dq=Universities+Federation+of+Animal+Welfare+\(UFAW&ots=OU1WkEA-x&sig=RlpDrXf1qApKoQfuvEQTxFDcSv4#v=onepage&q=Universities%20Federation%20of%20Animal%20Welfare%20\(UFAW&f=false](https://books.google.com.ec/books?hl=es&lr=&id=Wjr9u1AAht4C&oi=fnd&pg=PR5&dq=Universities+Federation+of+Animal+Welfare+(UFAW&ots=OU1WkEA-x&sig=RlpDrXf1qApKoQfuvEQTxFDcSv4#v=onepage&q=Universities%20Federation%20of%20Animal%20Welfare%20(UFAW&f=false)
23. American Association for Laboratory Animal Science (AALAS). [Internet]. Disponible en: <https://www.aalas.org>

24. Federación de Sociedades Sudamericanas de Ciencias en Animales de Laboratorio (FESSACAL). [Internet. Disponibles en: <https://www.fessacal.org/>
25. Federation of European Laboratory Animal Science Associations (FELASA) [Internet]. Disponible en: <http://www.felasa.eu/>
26. National Research Council Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. 8 ed. Washington: The National Academies Press WNA, 2011. Disponible en: <https://grants.nih.gov/grants/olaw/guide-for-the-care-and-use-of-laboratory-animals.pdf>
27. Fentener van Vlissingen JM, Borrens M, Girod A, Lelovas P, Morrison F, Torres YS. The reporting of clinical signs in laboratory animals: FELASA Working Group Report. *Lab Anim* [Internet]. 2015;49(4):267-83. Disponible en: <https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/0023677215584249>
28. Committee on wildlife of the Canadian Council on Animal Care (CCAC). Guidelines on: the care and use of wildlife [internet]. 2003 [citado el 22 de febrero de 2020]. Disponible en: <https://www.ccac.ca/Documents/Standards/Guidelines/Wildlife.pdf>
29. Bronstad A, Newcomer CE, Decelle T, Everitt JI, Guillen J, Laber K. Current concepts of Harm–Benefit Analysis of Animal Experiments – Report from the AALAS–FELASA Working Group on Harm–Benefit Analysis – Part 1. *Lab Anim*. [Internet]. 2016;50(1S) 1–20. Disponible en: <https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/0023677216642398>
30. Kollmus H, Post R, Brielmeier M, Fernandez J, Fuchs H, McKerlie C et al. Structural and functional concepts in current mouse phenotyping and archiving facilities. *J Am Assoc Lab Anim Sci* [internet]. 2012;51(4): 418-35. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3400690/>
31. Graham ML, Prescott MJ. The multifactorial role of the 3Rs in shifting the harm- benefit analysis in animal models of disease. *Eur J Pharmacol* [internet]. 2015;759:19-29. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4441106/>
32. Falconi E, García L, Marín O, Padrón RM, Rivas G, Vargas G. Manual para el manejo de animales con fines de experimentación y enseñanza. Localizado: División Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. [acceso: 14 de febrero de 2020]. 2010. Disponible en: http://www.archivos.ujat.mx/dacbiol/docencia/lineamientos/manejo_animales.pdf
33. National Research Council (US) Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Institute for Laboratory Animal Research Division on Earth and Life Studies. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. 8a. ed. Washington DC: National Academic press (US) 2011. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK54050/pdf/Bookshelf_NBK54050.pdf
34. Balcombe JP, Barnard ND, Sandusky C. Laboratory routines causes Animal Stress. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* [internet]. 2004;43(6):42-51. Disponible en: https://animalstudiesrepository.org/cgi/viewcontent.cgi?referer=https://www.google.com/&httpsredir=1&article=1001&context=acwp_lab
35. Riera L. Animales libres de patógenos específicos [internet]. Monografias.com. 2006. Disponible en: <https://www.monografias.com/trabajos42/animales-de-laboratorio/animales-de-laboratorio.shtml>

36. Van de Weerd HA, Aarsen EL, Mulder A, Kruitwagen CL, Hendriksen CF, Baumans V. Effects of environmental enrichment for mice: variation in experimental results. *J Appl Anim welf Sci* [internet]. 2002;5(2):87-109. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/10766694_Effects_of_Environmental_Enrichment_for_Mice_Variation_in_Experimental_Results/link/09e41508a8d0d956ef000000/download
37. Coelho AC, Garcia J. Biological Risks and Laboratory-Acquired Infections: A Reality That Cannot be Ignored in Health Biotechnology. *Journal List Front Bioeng Biotechnol* [internet]. 2015;3:56. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4412124/>
38. Navarro-Hernández J, Ramírez ROA, Villagrán C. Manual de procedimientos recomendables para la investigación con animales [internet]. México D.C.: SAMSARA; 2012. Disponible en: <http://www.imss.gob.mx/sites/all/static/profesionalesSalud/investigacionSalud/cbis/manualprocedimientosanimales.pdf>
39. Romero W, Batista Z, De Lucca M, Ruano A, García M, Rivera M et al. El 1, 2, 3 de la experimentación con animales de laboratorio. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* [internet]. 2016;33(2):288-99. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v33n2/a15v33n2.pdf>
40. Bate ST, Clark RA. Diseño experimental. En: *El diseño y análisis estadístico de experimentos con animales*. Cambridge: Cambridge University Press; 2014. p. 30-121. Disponible en: <https://www.cambridge.org/core/books/design-and-statistical-analysis-of-animal-experiments/experimental-design/9659C696823957435E049B8F9C2A5AAF>