

Laboratory

Animals

Refinamiento de la estabulación de roedores: El ratón

Informe de la Reunión de Trabajo
sobre Refinamiento en Roedores

Edición en Español de:
Laboratory Animals (1998) **32**, 233-259

Editado por:



Publicación patrocinada por:



Traducción del siguiente artículo original publicado en *Laboratory Animals*:

Refining rodent husbandry: the mouse

Report of the Rodent Refinement Working Party

Members of the Rodent Refinement Working Party: M. Jennings (Secretary), G. R. Batchelor, P. F. Brain, A. Dick, H. Elliott, R. J. Francis, R. C. Hubrecht, J. L. Hurst, D. B. Morton, A. G. Peters, R. Raymond, G. D. Sales, C. M. Sherwin & C. West

Laboratory Animals (1998) **32**, 364-368

Este artículo ha sido revisado por

Dr. José M.^a Orellana Muriana. Universidad de Alcalá (Madrid). España

Traducción: Águeda M.^a Orellana Solares

Coordinación: Dr. José M.^a Orellana Muriana. Universidad de Alcalá. Madrid
Dr. Antonio Martínez Escandell. GSK. Madrid

Nuestro agradecimiento al Consejo de Dirección de *Laboratory Animals Ltd.* por el patrocinio y colaboración en esta traducción.

Refinamiento de la estabulación de roedores: El ratón

Informe de la Reunión de trabajo sobre refinamiento en roedores

**Miembros de la Reunión de Trabajo sobre Refinamiento en Roedores:
M. Jennings* (Secretaria), G.R. Batchelor, P.F. Brain, A. Dick, H. Elliott,
R.J. Francis, R.C. Hubrecht*, J.L. Hurst, D.B. Morton*, A.G. Peters, R.
Raymond, G.D. Sales, C.M. Sherwin & C. West**

Contenidos			
Prefacio	234	4.6.1 Iluminación	246
1. Introducción y objetivos del informe	234	4.6.2 Ruido	246
2. La relación entre la estabulación y el objetivo del procedimiento	235	5. Salud y cuarentena	247
3. Historia natural y comportamiento de los ratones en relación a su estabulación	236	6. Sujeción y manejo	247
3.1 El ratón en su medio natural	236	7. Identificación	248
3.2 Los sentidos y la comunicación	236	8. Equilibrio entre el suministro y la demanda	249
3.2.1 El olfato	236	9. Transporte	250
3.2.2 El oído	236	9.1 Aclimatación	250
3.2.3 El tacto	237	9.2 Recogida y entrega de animales en o a un lugar	250
3.2.4 La vista	237	9.3 Recepción de animales	250
3.2.5 La capacidad de experimentar dolor, sufrimiento y angustia	237	9.4 Traslado <i>in situ</i>	251
3.3 El comportamiento de los ratones de laboratorio	237	9.4.1 Contenedores	251
4. La estabulación	238	9.4.2 Carritos	251
4.1 Jaulas	239	9.4.3 Ascensores	251
4.1.1 Materiales de las jaulas	239	9.4.4 Procedimientos de descontaminación	252
4.1.2 Tamaño y diseño de la jaula	239	10 Los animales en los sistemas de contención	252
4.1.3 Suelo de la jaula	241	10.1 Aspectos a considerar	252
4.1.4 Materiales de lecho y nido	241	10.1.1 Interacción reducida entre los animales y el personal	252
4.1.5 Complementos en las jaulas	243	10.1.2 Visibilidad restringida	252
4.2 Enriquecimiento nutricional	243	10.1.3 Espacio y diseño	252
4.3 Establecimiento de grupos sociales	244	10.1.4 Medio ambiente	252
4.4 Limpieza y marcas olorosas	245	10.1.5 Esterilización	253
4.5 Estabulación de ratas y ratones en la misma habitación	246	10.1.6 Procedimientos quirúrgicos	253
4.6 El medio ambiente en el laboratorio: iluminación, temperatura, humedad, ruido	246	10.1.7 Organigrama del personal	253
		11 Ratones modificados genéticamente	254
		12 Ratones silvestres	254
		12.1 Alojamiento	254
		12.2 Manejo	254
		12.3 Salud	255
		12.4 Agrupamiento social	255
		13 Hacia un sistema ideal: Áreas de investigación	256
		14 Referencias bibliográficas	256

*Comité de Dirección del RSPCA/ UFAW/ FRAME/ BVAAWF

Prefacio

Siempre que se utilizan animales en los laboratorios cuando se quieren obtener resultados experimentales, es importante tener como objetivo minimizarles cualquier dolor o malestar (ej. Refinamiento), tanto por razones humanitarias, como para cumplir con normativas legales, como la Directiva Europea sobre la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos (European Community 1986), el Decreto sobre Bienestar Animal de los Estados Unidos de Norteamérica o el Decreto sobre Investigación y Salud (National Research Council 1996) además de normativas nacionales específicas de animales (Procedimientos Científicos) como el Decreto 1986 del Reino Unido.

Durante estos años, la atención se ha centrado en la necesidad de reconocer y controlar los efectos adversos de los procedimientos científicos sobre los animales y, del mismo modo, en la necesidad de mejorar y enriquecer el entorno en el que los animales de laboratorio pasan sus vidas. Existe todavía sin embargo, un gran campo de acción para mejorar las actuales prácticas de laboratorio. Tales mejoras, no solo benefician al bienestar de los animales, sino que también pueden incrementar la calidad de la investigación científica, ya que el sufrimiento y el malestar de los animales, pueden producir cambios fisiológicos que probablemente aumenten la variabilidad de los datos experimentales y, lo que es peor, pueden incluso invalidar la investigación.

Tanto en la estabulación animal, como en las técnicas de laboratorio, pueden obtenerse mejoras inmediatas de varias maneras, pero para lograrlo, debe disponerse de información fiable y actualizada. La necesidad de proporcionar tal información llevó a la constitución de un Grupo de Trabajo sobre refinamiento, compuesto por la BVAAWF, el FRAME, la RSPCA y la UFAW. Su propósito es establecer una serie de grupos de trabajo, que definan las maneras en que la estabulación y los procedimientos pueden ser refinados, para así minimizar cualquier malestar y mejorar el bienestar de los animales de laboratorio. Los miembros de cada grupo proceden de la industria, la universidad y de las organizaciones de bienestar animal. Cada uno se ocupa de un tema específico y sus

conclusiones han sido publicados en la revista *Laboratory Animals*.

El grupo de trabajo reconoce que la metodología seguida en las reuniones ha sido fundamentalmente enfocada desde la perspectiva del Reino Unido y que la literatura revisada en ese área es relativamente escasa. En cualquier caso, se espera que estos informes circulen ampliamente en los foros internacionales y que puedan ser un reto para establecer unos patrones que permitan el avance del bienestar animal, además de ser adoptados como la mejor práctica de laboratorio.

Hay que tener en cuenta que algunos de los participantes en el grupo, están en contra de la utilización de animales en aquellos experimentos que les causen dolor, sufrimiento o malestar. Sin embargo, comparten con muchos investigadores el propósito común de reducir el sufrimiento animal siempre que éste ocurra. Estos informes pretenden ayudar a conseguir este objetivo, particularmente si se leen en conjunto con otros informes sobre el reconocimiento, evaluación y remedio del dolor o el malestar en los animales.

El presente informe, titulado "Refinamiento de la estabulación de roedores: el ratón", es el tercero en una serie formada por *Extracción de sangre de los mamíferos de laboratorio y de los pájaros*, que se publicó en *Laboratory Animals* (1993) 27,1-22 y *Refinamiento en la estabulación de conejos* publicado en *Laboratory Animals* (1993) 27, 301-329. El informe describe las formas en que puede mejorarse la estabulación y el cuidado de los ratones, poniendo énfasis en proporcionarles un entorno que les permita expresar un amplio abanico de comportamientos.

1. Introducción y objetivos del informe

Los animales más utilizados en todo el mundo en procedimientos científicos, son los roedores de laboratorio. Se utilizaron más de 10 millones en Europa en 1991 (European Community 1994). La mayoría fueron ratas y ratones (31% y 68% respectivamente). En el Reino Unido, acorde con las estadísticas recogidas anualmente, 2,3 millones (87%) del total de los 2,64 millones de animales utilizados en 1996 fueron roedores (Home Office 1997). Esto incluye 1.496.390 ratones

(56% del total), 684.090 ratas (26%), 103.218 cobayas (4%), 9.898 hamsters (0,4%) y 7.341 gerbillos (0,3%) Hubieron también 3.546 de "otros roedores" (0,13%). Las mejoras en el bienestar de los roedores logradas mediante el refinamiento de la estabulación y los procedimientos, tienen un profundo impacto en el bienestar de los animales de laboratorio en general. Una mejor estabulación y cuidados permitirían una mayor calidad de los animales y, a su vez, se utilizarían en menor número. Este principio está siendo aplicado ya en otras especies como los perros, los primates y los conejos (Morton *et al.* 1993) y parece apropiado hacer lo mismo con los roedores.

En general, las jaulas para roedores proporcionan un entorno árido y limitado. Desde que los animales pasan la mayor parte de sus vidas en jaulas, la mejora o el enriquecimiento de este medio ambiente les puede proporcionar una oportunidad de optimizar su bienestar general. Sin embargo, con objeto de realizar lo anterior adecuadamente, deberían entenderse sus necesidades, tanto de comportamiento, como fisiológicas. De otra manera, las alteraciones existentes en el alojamiento y la estabulación, podrían reflejar solamente las preferencias humanas, sin beneficiar a los animales.

Existen muchos estudios detallados sobre el comportamiento de los roedores (ver la revisión de Brian *et al.* 1989), pero la significación de los resultados en relación con el bienestar de los animales de laboratorio no ha resultado siempre clara. En consecuencia, no hay un consenso sobre las necesidades de los animales o la mejor forma de satisfacerlas. La información contenida en la legislación nacional e internacional y en las guías sobre cuidado y estabulación (ej. European Union 1986, Council of Europe 1986, UK Home Office 1989 & 1995, National Research Council NRC 1996) es limitada y los conceptos han ido evolucionando desde que fue publicada.

Este informe trata específicamente la estabulación de los ratones, como el roedor más utilizado (futuras publicaciones cubrirán otras especies). El informe revisa los sistemas de estabulación en la literatura publicada y mediante la propia experiencia de los miembros del grupo de trabajo. El informe recomienda las mejores formas de estabulación y fija unos objetivos ideales, otorgando a los animales el beneficio de la duda cuando no haya una idea

precisa sobre sus necesidades. Sin embargo, los autores se dan cuenta que no siempre se puede proporcionar un ambiente ideal, por lo que estas recomendaciones son para alcanzar el mejor cuidado posible en el laboratorio.

2. La relación entre la estabulación y el objetivo del procedimiento

Un análisis de los tipos de procedimientos con ratones en el Reino Unido (ver Fig. 1) muestra que son muy utilizados en investigación y testaje en medicina humana y odontología, en investigación básica y en ingeniería genética. Un análisis adicional de las diferentes utilidades, muestra que las pruebas de toxicidad representan alrededor del 19% del total de los procedimientos con ratones. Los ratones son muy utilizados en investigación oncológica, representando el 94% de los procedimientos en esta categoría, junto con el 68% en inmunología y el 51% en investigaciones farmacéuticas y de desarrollo. Este tipo de análisis es prácticamente igual en otros países, aunque no se encuentran disponibles las cifras sobre las especies de roedores de manera individual.

Todos los ratones deben poder beneficiarse de algún tipo de enriquecimiento medio-

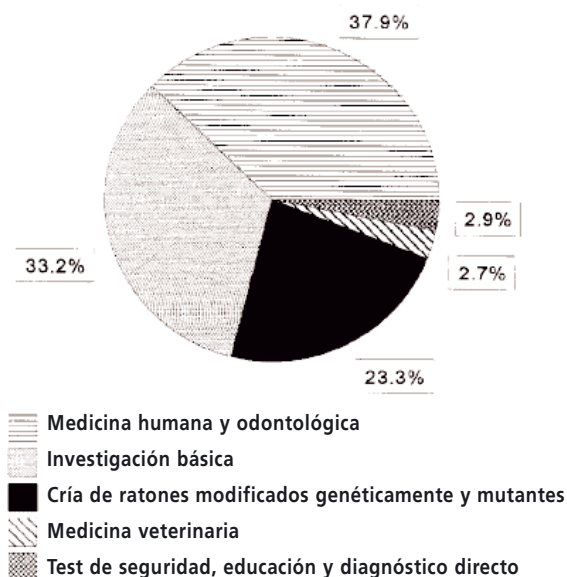


Fig. 1. Procedimientos en ratón 1996.

ambiental incluso en pruebas de toxicidad, donde los requerimientos regulatorios pueden ser interpretados como más restrictivos. En resumen, debemos asumir el reto de encontrar algún tipo de enriquecimiento, siempre y cuando esté documentado apropiadamente.

3. Historia natural y comportamiento de los ratones en relación a su estabulación

3.1 *El ratón en su medio natural*

El ratón de laboratorio deriva de un grupo oportunista y adaptable de especies y subespecies que se encuentran frecuentemente en asociación con los humanos en todo el mundo, en medios tan diversos como cámaras frigoríficas, bodegas, pajares, atolones del Pacífico o islas cercanas a la Antártica (Brain y Parmigiani 1990). Algunas poblaciones moran en la superficie, otras habitan en complejos sistemas de madrigueras, dependiendo de su capacidad para poner techo o adecuar el sustrato disponible en los diferentes habitats para hacerlas. Durante su domesticación, los ratones fueron seleccionados por sus características particulares, pero conservan, no obstante, muchos de los atributos de sus colegas silvestres. Entendiendo a estos, se pueden mejorar las necesidades de los animales en cautividad (Brain 1992).

Como otros pequeños mamíferos, la vulnerabilidad a un amplio abanico de predadores, ha sido la mayor fuerza selectiva que ha servido para moldear su comportamiento y sus estrategias vitales. Ya que son marcadamente nocturnos, tienen una fuerte tendencia a mantenerse ocultos en lugares seguros (madrigueras, vegetación o dentro de la estructura de los edificios), especialmente durante el día o cuando exploran territorio desconocido. Su corta esperanza de vida favorece a que sean animales que se reproducen y desarrollan rápidamente, además de invertir en una gran descendencia para maximizar las oportunidades de que alguno viva lo suficiente como para reproducirse (Daly y Wilson 1978, Millar y Zammuto 1983, Read y Harvey 1989, Hurst 1998). Estas características han tenido grandes consecuencias en la evolución de sus cinco sentidos y de su comunicación.

3.2 *Los sentidos y la comunicación*

Los ratones dependen más de las marcas olorosas, las emisiones audibles o ultrasónicas y los estímulos táctiles, que de la visión.

3.2.1 *El olfato*

Los olores son importantes para la comunicación (ej. Berry 1981). Es una preocupación importante, ya que su alojamiento en jaulas y algunos de los procedimientos realizados transtornan su comunicación olfatoria.

Los ratones siguen unos patrones de actuación, como el marcaje de territorio mediante deposiciones urinarias y para el reconocimiento individual o del grupo. Además, tienen un número de glándulas que producen sustancias olorosas, importantes en el control del comportamiento sexual y de la agresividad y pueden tener además un potente efecto en la fisiología reproductiva. Los olores de los machos adultos o de las hembras preñadas o en fase de lactancia, pueden acelerar o retardar la maduración sexual de las hembras jóvenes y sincronizar los ciclos reproductivos en las hembras maduras. Los olores de un macho extraño pueden malograr una preñez (Brown 1985a, Brown 1985 b).

Datos recientes sugieren que los olores extraños (por ej. asociados con los humanos) pueden producir respuestas por estrés en los ratones de laboratorio (Dhanjal 1991). Este hecho debe tomarse en cuenta cuando se limpian las jaulas o se manejan los animales.

3.2.2 *El oído*

Los ratones tienen un amplio rango de sensibilidad auditiva. Pueden detectar sonidos de 80 Hz a 100 kHz, pero son más sensibles en el rango entre 15 kHz a 20 kHz y alrededor de 50 kHz. El nivel de sensibilidad varía con la edad y entre las cepas. Se han obtenido respuestas auditivas a partir de los 11 días de edad. Hay algunas cepas que presentan como característica propia los espasmos audiogénicos (Gamble 1982) y una exposición a edad temprana de estos animales a los sonidos altos, puede aumentar esta sensibilidad.

Son importantes tanto los sonidos audibles como los ultrasonidos. Los ultrasonidos se utilizan en encuentros sexuales y los sonidos audibles se utilizan en las peleas. Es bien sabido que los ultrasonidos utilizados por las crías como llamada de angustia, obtienen respuestas de rescate de sus madres y son buenos indicadores del estado de ansiedad (Livesley 1991).

3.2.3 *El tacto*

El tacto es un sentido importante. En momentos de estrés, los ratones conservan un contacto táctil más acusado con las superficies (Ej. Berry 1981). La pérdida del contacto táctil con sus coetáneos, parece ser el factor más importante que determina el aumento en la agresividad de los machos aislados (Brain y Benton 1983). Los bigotes (vibrisas) son importantes para localizarse en el espacio.

3.2.4 *La vista*

Los ratones están adaptados a vivir a niveles bajos de luz. La vista parece ser un sentido menos crítico para su normal comportamiento que en otros animales de laboratorio (Strasser y Dixon 1986).

Es importante el movimiento de detección como una respuesta de alerta y se ha demostrado que tanto las señales visuales como las olfativas, inciden en una defensa agresiva y de reconocimiento de la zona considerada como su hogar (Jones y Novell 1973).

Los ratones son insensibles a la luz roja, por lo que es útil para observarlos. Las luces blancas fuertes inducen y exacerban la degeneración retiniana y por ello deben ser evitadas.

3.2.5 *La capacidad de experimentar dolor, sufrimiento y angustia*

Existe una tendencia general, cuando tratamos con un gran número de animales de apariencia similar, a pasar por alto su individualidad y su capacidad para experimentar dolor, angustia o sufrimiento. Esta tendencia es más marcada cuando los animales son pequeños. No obstante, no hay una razón científica para sugerir que los ratones de laboratorio son menos capaces de experimentar dolor, angustia o sufrimiento que otros vertebrados. De hecho, el sistema nervioso central y el periférico de los ratones, comparten tantas características anatómicas y funcionales con el de los humanos, que son utilizados como modelos para el desarrollo de analgésicos, antidepressivos y ansiolíticos. En suma, debe recordarse que los animales no humanos tienen necesidades o motivaciones que son diferentes de nuestras propias experiencias, por ejemplo, los ratones están altamente motivados para realizar comportamientos de construcción de nidos. Si no se les permite que desarrollen estos comportamientos, se les puede ocasionar frustración y quizá sufrimiento mental.

Como principio, cuando se cuestiona la capacidad de los ratones para sufrir y los factores que pueden comprometer su bienestar, se debe siempre otorgar al animal el beneficio de la duda.

3.3 *El comportamiento de los animales de laboratorio*

Los comportamientos de los ratones de laboratorio son bastante complejos. Detallados análisis etológicos revelan más de 40 actividades individuales y posturas, que ellos utilizan habitualmente dentro de sus jaulas (Brain *et al.* 1989). Algunos de sus comportamientos más comunes son:

Comportamientos de mantenimiento corporal:

Cuidado corporal, alimentación, bebida, anidamiento, descanso.

Comportamientos no sociales de

investigación/exploración: Cavar, roer, investigación (visual, olfativa, acústica, táctil), marcas territoriales de olor, trepar.

Interacciones sociales: Investigación cercana y lejana (visual, olfativa, acústica, táctil) acicalamiento al compañero, amontonamiento juntos / inmóviles, marcas de olor para comunicarse, de agresividad (amenazar, ataque), de defensa (evitación, huida, sometimiento), sexual, cuidado parental, juego (en jóvenes).

Hay más de 200 cepas de ratones de laboratorio consanguíneas (endogámicas, endocriadas o inbred) y no consanguíneas (exogámicas, exocriadas u outbred) que se utilizan habitualmente, junto con las cepas modificadas genéticamente. Las cepas muestran una gran variabilidad en el comportamiento y en el porcentaje de tiempo que dedican a cada uno de los diferentes comportamientos. Un ejemplo de comportamiento dependiente de la cepa, es que, en algunas de ellas, las hembras atacan a sus homólogas y algunas hembras incluso, pueden mostrar una defensa vigorosa del nido contra machos más fuertes. Se sabe que los machos adultos son agresivos con los demás, pero este comportamiento es menos esperable en las hembras. Los grupos alojados en esta situación requieren una atención especial. Algunas cepas, tienen problemas específicos asociados, como por ejemplo, el comportamiento de construir un nido puede ser muy rudimentario y puede causar problemas en la cría y en el desarrollo de la camada (Southwick y Clark 1966, Southwick y Clark 1968,

Henderson 1970, Brain *et al.* 1982, Guillot *et al.* 1994). El ciclo de luz-oscuridad, edad, sexo y estatus social también tiene grandes efectos en los patrones de comportamiento. Algunos comportamientos son también dependientes de la colocación de la jaula e incluso del suministrador.

Ciertos comportamientos pueden ser indicativos de problemas durante un régimen particular de estabulación, por ejemplo, el comportamiento con ánimo de lesionar (amenaza y ataque), el sobre-acicalamiento, el excesivo temor (evidenciado por gesto de evitación y huida, la inmovilidad y las respuestas de alerta), persistentes tentativas de escapar y una variedad de movimientos repetitivos. El comportamiento estereotipado, como los excesivos movimientos circulares o los saltos (Tuli 1993), es también indicativo de problemas. Este comportamiento puede aparecer más frecuentemente durante la fase de oscuridad y por ello, es menos probable que sea detectado con una iluminación normal.

Para definir los patrones de comportamiento normal y determinar la estabulación más apropiada, es importante averiguar, tanto como sea posible, sobre la cepa del ratón que va a ser alojada y utilizada. Es esencial la comunicación entre el criador y los técnicos sobre la disponibilidad, las características de comportamiento y las necesidades del animal. Los investigadores deberían utilizar las cepas genéticamente modificadas con el fenotipo más adecuado a su investigación, en lugar de utilizar el ratón blanco no consanguíneo. Esto reduciría la variabilidad, ya que se necesitarían menos animales.

Recomendaciones:

- **Es muy importante entender el comportamiento normal de los ratones y ser capaz de reconocer un comportamiento anormal.**
- **Es esencial averiguar lo más posible sobre la cepa que se vaya a alojar y utilizar, para determinar tanto los métodos de estabulación más apropiados, como para establecer los patrones de comportamiento normal y así identificar los problemas lo antes posible. Es esencial la comunicación entre el criador y los técnicos de animalario sobre la disponibilidad, las características de comportamiento y las necesidades del animal.**
- **Se debe pensar muy detenidamente sobre qué cepa se necesita y por qué. Es importante considerar el comportamiento además de la conveniencia científica de la cepa, cuando buscamos el animal más apropiado. Cuando sea posible debe elegirse el animal más dócil y fácil de**

manejar. Cuando también sea posible se deben utilizar cepas genéticamente definidas.

4. Estabulación

Es difícil especificar las condiciones óptimas de estabulación para todos los ratones, debido a las diferencias existentes entre cepas. Es más, las características de algunas colonias no consanguíneas y algunas cepas consanguíneas, incluyendo algunas cepas modificadas genéticamente, hacen su cuidado y estabulación más difícil.

Por ejemplo, el ratón desnudo, mutante sin pelo, necesitará un control adecuado de la temperatura que asegure su confortabilidad. Los machos de la cepa SJL son muy agresivos y no pueden alojarse juntos (Crispens 1973). Los requerimientos de los animales dependerán además de cada circunstancia concreta, por ejemplo, si son animales de cría, recién destetados o durante un procedimiento.

Cuando consideramos las necesidades de estabulación de cualquier animal de laboratorio, sería correcto aplicar el concepto de las "cinco exenciones" ("five freedoms"), desarrollado para animales de granja por el Consejo para el Bienestar de los Animales de Granja (FAWC 1992 y 1993). Estas cinco exenciones se componen de: exención del hambre y la sed, exención del malestar, exención del dolor, el daño y la enfermedad, exención del miedo y la angustia. La quinta exención expresaría un comportamiento normal. Cuando se aplica este concepto a los ratones, significa que las jaulas deben satisfacer las necesidades fisiológicas y etológicas básicas; de descanso, de acicalamiento, de exploración, de ocultación, de búsqueda de comida, para roer, de interacción social, de fabricación de nidos, de cavar y de apartarse del grupo. En resumen, los animales deben tener algún grado de control sobre su entorno.

Basándonos en esta idea, las jaulas actuales son demasiado cortas. Las más utilizadas tienen un diseño de "caja de zapatos" y son excesivamente simples. Su tamaño restringe la posibilidad de realizar su actividad o de aplicar el enriquecimiento. En las siguientes secciones de este informe, se evalúan las jaulas con respecto a las necesidades de los animales y se ofrecen recomendaciones para conseguir una mejor utilización de los sistemas disponibles, junto con ideas para mejorar otros aspectos de la estabulación y cuidado de los animales. Éstas deberían ser rediseñadas, para cubrir las necesidades de comportamiento y espacio de los ratones, aunque esta es una meta a largo plazo.

Un segundo principio, se basa en que sería beneficioso que la estabulación posibilitara a los animales llevar a cabo el más amplio abanico de patrones normales de comportamiento.

4.1 Jaulas

4.1.1 Materiales de la jaula

Las jaulas se fabrican de metal o plástico transparente u opaco, frecuentemente con tapas de rejilla de acero inoxidable. No se puede dar una respuesta definitiva sobre qué tipo de jaula es la mejor para el animal, aunque existen evidencias de que se prefieren las jaulas opacas (Baumans *et al.* 1987). Todos los materiales tienen ventajas e inconvenientes:

Metal (acero inoxidable o aluminio)

Ventajas.

Es más fácil de modificar en diferentes formas para proporcionar enriquecimiento. Es duradero y fácilmente autoclavable a altas temperaturas.

Inconvenientes.

Frío, ruidoso y sin textura, por tanto, podría no proporcionar un ambiente confortable para los animales. Las jaulas de acero inoxidable son caras y pesadas. Las jaulas cerradas con una tapa de metal continuo impiden a los animales utilizarlas para trepar, quitando una dimensión a la jaula y el flujo de aire puede verse disminuido.

Plástico.

Ventajas.

Aunque el plástico es moldeable, su potencial no ha sido explorado. Más cálido al tacto, más ligero de manejar, puede ser más confortable (O'Donoghue 1994). Las jaulas de plástico transparente hacen más fácil para el personal la observación de los animales. Los animales pueden ser capaces de detectar los movimientos del personal y por ello podrían acostumbrarse más rápido a los movimientos en la habitación.

Inconvenientes.

Las jaulas transparentes son más propensas a la sobre-iluminación y es difícil para los animales alejarse de la luz.

Las jaulas transparentes reducen la posibilidad de ocultarse, un comportamiento que se muestra como muy importante.

No es seguro si los ratones pueden ver a los animales de las jaulas adyacentes, o si esto tiene algún efecto en su comportamiento.

Algunos de los inconvenientes de los diferentes tipos de jaula pueden superarse con la utilización de lecho y añadiendo otras formas de enriquecimiento ambiental. El uso de los filtros rojos o la incorporación de tinte rojo no tóxico en las jaulas de plástico transparente (Hubrecht), puede mejorar la observación a la vez que se reduce el nivel de molestia para el animal.

Recomendaciones:

- **Las jaulas de plástico parecen tener más ventajas y son recomendables por esta razón.**
- **La utilización de enriquecimiento para superar los inconvenientes de algunas jaulas, ej. proporcionando lecho en las jaulas de metal, material de anidamiento y lugares donde esconderse en las jaulas transparentes.**
- **Las jaulas con tapa continua no deben utilizarse sin darle al animal la posibilidad de trepar y sin comprobar regularmente el flujo de aire.**

4.1.2 Tamaño y diseño de la jaula

En la tabla 1 se expone un compendio de los diferentes datos sobre el tamaño mínimo de jaula aparecido en varias guías y códigos de prácticas. Estas cifras se basaron más en las "mejores suposiciones" que en demostraciones científicas.

La superficie necesaria dependerá de muchos factores; la cepa, el tamaño del grupo, la edad, el estatus reproductivo, el allegamiento familiar, la hora del día y las actividades que están siendo realizadas. Por ejemplo, cuando un grupo de ratones duerme junto a ciertas horas del día, no utiliza todo el espacio disponible. Esto no indica necesariamente que

Tabla 1. Espacio mínimo recomendado (cm²/ratón) en las guías existentes

Para ratones estabulados individualmente							
Peso (g)	HO ¹	HO ²	RS/UFAW	UE	ETS 123		
Revisado							
< 20	-	200	-	<60	60		
21-25	-	200	-	60-70	70		
26-30	-	200	-	70-80	80		
< 30	200	-	200	< 80	100		
> 30	200	200	200	> 80	100		
Tam. mín. de jaula	200	200	-	-	330		
Para ratones estabulados en grupos							
Peso (g)	HO ¹	HO ²	RS/UFAW	ILAR*	Peso (g)	ETS 123 Anterior	ETS 123
Revisado (criadores)							
< 20	-	30	-	39-51	10	40	40
21-25	-	45	-	77	20	60	40
26-30	-	60	-	95	30	80	40
< 30	60	-	60	95			40
> 30	100	100	100	95	40	100	40
Tam. mín. de jaula	200	200	-	-			
Tam. mín. de jaula	180	950					
Ratones de cría							
				HO ¹			
Pareja monógama (outbred/inbred/Trío (inbred))					300 cm ² (más 180 cm ² para cada hembra que se añade con su camada)		

Nota: La altura recomendada de la jaula es 12 cm.

*Los rangos de peso han sido ajustados a esta tabla.

HO¹ Código de prácticas del Home Office británico para el alojamiento y cuidado de los animales en procedimientos científicos (1987).

HO² Código de prácticas del Home Office británico para el alojamiento y cuidado de los animales en los establecimientos suministradores y de cría (1995).

UE: Directiva 86/609 de la Unión Europea sobre la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos.

ETS 123 Anterior: Convenio ETS 123 del Consejo de Europa sobre la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos (hasta su revisión).

ETS 123 Revisado: Nota del revisor: Se ha creído oportuno añadir los datos del Convenio ETS 123 aprobados por el Grupo de Trabajo en Septiembre de 2004.

ILAR: Instituto de Recursos para Animales de Laboratorio, USA. Guía para el cuidado y utilización de los animales de laboratorio (1996).

sus requerimientos de espacio a otras horas del día sean los mismos, cuando desarrolla comportamientos diferentes.

En términos de bienestar, la cantidad de espacio es un parámetro importante, ya que dicta el tamaño posible del grupo, la posibilidad de los animales para desarrollar unos comportamientos que requieran locomoción o exploración y la capacidad de proveerles de enriquecimiento ambiental. (Hay que tener en cuenta que los animales jóvenes pueden necesitar más espacio, para facilitarles los juegos que afectan a su desarrollo. Por lo tanto, los criterios para determinar los requerimientos de espacio no deben solamente relacionarse con

el peso del animal). Se ha demostrado que al aumentar el tamaño de la jaula, los ratones se encuentran mucho más motivados para entrar en ellas (Sherwing y Nicol 1996a) y continuar explorando todo el espacio disponible. Ello es independiente de la cantidad de espacio adicional que se proporciona, lo cual sugiere que lo que más les motiva es explorar nuevas zonas o bien que desean escapar de los confines de sus jaulas.

Tanto el volumen de espacio, como la superficie del suelo son importantes, ya que de ese modo, los comportamientos del ratón pueden llevarse a cabo en las tres dimensiones. Los ratones inmediatamente trepan y

descienden por las superficies verticales, como la rejilla, si está provista de suficientes huecos. Un volumen mayor permite proporcionar un enriquecimiento adicional. Puede aumentarse, incrementando la altura de la jaula y estructurando el medio mediante la colocación de superficies (por ejemplo, estantes), de accesorios para trepar, o mobiliario que permita a los animales utilizar el espacio. No obstante, la altura no debe ser aumentada excesivamente si no permite el acceso a la tapa, ya que los ratones se cuelgan de las barras y este comportamiento podría ser frustrado. Una opción de bajo coste para proporcionar un mayor espacio de recorrido a los ratones es alojarlos en jaulas grandes de ratas (ivacías!). Las tapas necesitan encajar adecuadamente para evitar que se escapen. El tamaño de los huecos de la rejilla debe ser revisado, para asegurarse de que no queden espacios lo suficientemente grandes como para que los ratones introduzcan sus cabezas a través de ellos y queden atrapados.

En ausencia de un tamaño óptimo consensuado, un punto importante es la interacción entre el espacio, la estructura de la jaula, los animales y los enriquecimientos proporcionados. De este modo, deben considerarse tanto la calidad, como la cantidad del espacio. Por ejemplo, el bienestar puede mejorar sólo mínimamente, o incluso verse comprometido, si se les proporciona cantidades de espacio demasiado grandes vacías, ya que puede estimular las agresiones entre machos por el territorio. Por ello, el tamaño de la jaula no debe aumentarse, sin aumentar la complejidad de la misma.

Recomendaciones.

- **El tamaño de las jaulas que aparecen en las guías actuales es el mínimo recomendado, por lo que se debe proporcionar un mayor espacio siempre que sea posible.**
- **El tamaño de las jaulas debe ser considerado en tres dimensiones, por ejemplo, área del suelo y volumen, y en calidad, además de en cantidad de espacio.**
- **El área de suelo necesario según el peso, no debe ser el único criterio para determinar el espacio necesario, ya que los animales jóvenes necesitan más sitio para jugar.**
- **Es útil incrementar la altura y por tanto el volumen, pero no sin permitirles el acceso a la tapa de la jaula y sin proporcionarles**

estructuras que permitan que el volumen extra pueda ser utilizado.

- **Es necesario seguir investigando para determinar el tamaño de jaula óptimo.**

4.1.3 Los suelos de la jaula

Las jaulas más habitualmente utilizadas cuentan con un suelo continuo o de rejilla. Las últimas son utilizadas normalmente en estudios toxicológicos (Hubrecht 1995). Posibilitan la observación de la producción de heces y orina, preservan a los animales de estar en contacto con ella, evita la ingesta de lecho y minimiza la coprofagia (Los ratones comerán heces directamente del ano, por eso la utilización de rejillas es inefectiva).

Los suelos continuos permiten la provisión de un sustrato, los de rejilla no. Los de rejilla facilitan la limpieza, pero no permiten a los animales desarrollar muchas de sus actividades normales y pueden causar problemas de salud, por ejemplo, llagas en las extremidades (Hubrecht 1995) y problemas urológicos en los machos (Everitt *et al.* 1988). Los ratones parecen preferir un área de descanso continua y, cuando se les deja elegir, pasan más tiempo en un suelo continuo que en el de rejilla (Blom *et al.* 1996). Un importante hallazgo es que los ratones evitan defecar y orinar en sus suelos preferidos. Cuando se les deja elegir entre una zona de suelo continuo con lecho o una zona de rejilla, ellos defecan y orinan en esta última (Blom 1993).

Por estas razones, la necesidad actual de utilizar suelos de rejilla debe ser siempre cuestionada y debe proporcionarse al menos una zona de suelo continuo. Los suelos parcialmente continuos, parcialmente de rejilla, necesitan ser diseñados cuidadosamente si se pretende proporcionarles lecho.

Recomendaciones:

- **Deben utilizarse más los suelos continuos que los de rejilla. Estos últimos no deben utilizarse, a menos que haya una buena razón científica y en ese caso, sólo por el mínimo periodo de tiempo necesario para los objetivos científicos.**
- **Se debe siempre proporcionarles una zona continua para su descanso.**

4.1.4 Material de lecho y nido

Es importante proporcionar un lecho para el bienestar de los animales, debido a varias

razones. Satisface varias necesidades de comportamiento (todos los roedores de laboratorio pasan bastante tiempo manipulando el lecho y el material de anidamiento y creando túneles o madrigueras si existe suficiente profundidad y consistencia) y permite al individuo que delimite su propio micro-ambiente. Así puede aumentar notablemente el uso de la jaula y es una manera fácil, económica y altamente beneficiosa de enriquecimiento del entorno.

Es fundamental proporcionar material de anidamiento, porque a los ratones les motiva mucho utilizarlo (Van de Weerd *et al.* 1998a) y hacer nidos, no sólo durante la cría, sino también para regular la temperatura y los niveles de luz (por ejemplo, para dar sombra). En las jaulas transparentes es por tanto imprescindible proporcionar material de anidamiento. La construcción de nidos permite también a los ratones esconderse y aislarse de los demás miembros del grupo (Brain y Rajendram 1986, Van de Weerd *et al.* 1997).

Material del lecho. Un buen lecho debe constar de: viruta de madera de pequeño calibre, pedacitos de celulosa y tiras de papel de filtro. El serrín no es adecuado, ya que no se maneja bien y las partículas podrían producir problemas prepucciales, oculares y respiratorios. Los ratones prefieren materiales ligeros (Sherwin y Nicol 1996b). Las pruebas sobre preferencias han puesto en evidencia que, cuando se les da a elegir entre combinaciones de un sustrato de viruta de madera, tiras de papel de filtro o serrín, sobre rejilla y suelo continuo, estos prefieren el sustrato de papel.

Los materiales con un mayor tamaño de partícula y un papel desmenuzado o que se pueda desmenuzar, son más adecuados para su uso sobre suelo parcialmente de rejilla. Existen también pruebas de que los ratones prefieren tales materiales, ya que estos pueden ser utilizados para crear nidos así como para excavar (Rajendram 1984, Blom 1993). Sus preferencias pueden estar asimismo influenciadas por las diferentes intensidades de sonido, incluyendo ultrasonidos, producidos por distintos materiales cuando escarban en ellos (Blom *et al.* 1996).

Demasiada cantidad de algún tipo de material, junto con las actividades que realiza el ratón para excavar, pueden dar como resultado el amontonamiento de lecho bajo la botella de agua o el bebedero automático, lo que podría producir la inundación la jaula. Las ventajas de un lecho superan con creces esta desventaja y una

periódica observación minimizará el problema. El objetivo debería consistir en potenciar el uso de materiales de lecho sin ocasionar inundaciones.

Material para anidamiento. Los elementos que pueden utilizarse específicamente para la construcción de nidos son el heno, la paja, papel limpio en tiras, pañuelos de papel y viruta de madera. También se han empleado tiras de papel con este fin, con excelentes resultados. Pueden colocarse pañuelos de papel o papel charol en la parte superior de la jaula y así los ratones tirarán de la hoja a través de las barras, la harán trizas y la usarán para construir el nido (Roper 1973).

Las preferencias del material para construir el nido y las respuestas de comportamiento al material proporcionado, difieren entre las distintas cepas (Van de Weerd *et al.* 1997).

Únicamente determinados tipos de materiales son apropiados para los recién nacidos y por tanto, lactantes. En las jaulas de cría es importante evitar materiales como algodón, virutas de madera en tiras demasiado largas o tiras de papel, ya que se pueden enredar alrededor de las extremidades, el rabo o los cuerpos de los neonatos y causar algún tipo de lesión (Rowan y Michaels 1980). Debe evitarse cualquier material que absorba fácilmente la humedad, ya que puede pegarse a las crías, absorbiendo los fluidos de la superficie de la piel y produciendo su deshidratación y muerte.

Recomendaciones:

- **El lecho es esencial para todos los ratones.**
- **El lecho debe proporcionarse en cantidad suficiente como para permitir a los animales manipular su entorno y microclima. Una fina capa de sustrato no es suficiente.**
- **El lecho y el material de anidamiento proporcionan una sencilla, económica y altamente beneficiosa manera de enriquecer el entorno, lo que aumenta considerablemente la utilidad de la jaula. Los materiales de tamaño grande son buenos e incluyen virutas de madera, tiras de papel o pañuelos de papel. El suministro de papel para desmenuzarlo les proporciona una tarea adicional.**
- **El material para la construcción de nidos para la cría de ratones debe ser tal que las crías no se enreden en él. Por ejemplo, el algodón no es adecuado. No utilizar materiales de gran absorción.**

- **Los materiales para el lecho y nido no deben estar contaminados ni ser tóxicos.**

4.1.5 Complementos de la jaula.

Existe una amplia variedad de complementos que se pueden introducir (por ejemplo tubos, refugios) en las jaulas, lo que fomentará la actividad en las áreas centrales e incitará al ejercicio. La inclusión de diferentes tipos de complementos permite utilizar diferentes áreas para distintos comportamientos, y por tanto, aumentará el abanico de comportamientos que se pueden llevar a cabo. Se ha demostrado que los ratones criados en ambientes enriquecidos (con ruedas, túneles y juguetes) poseen más neuronas en el hipocampo que los correspondientes a camadas criadas en jaulas normales sin ningún tipo de complemento. Es probable, que estas neuronas de más, contribuyan a aumentar la capacidad de ejecución de tareas de aprendizaje espacial efectuadas por los ratones "enriquecidos" comparados con los controles (Kempermann *et al.* 1997). Es importante evaluar los complementos para asegurarse de que no ocasionan problemas y para valorar el beneficio que aportan.

Particiones y barreras. Los ratones tratan de dividir sus jaulas en zonas separadas para defecar, alimentarse, descansar, orinar y el almacenamiento de comida. Aunque estas divisiones pueden estar basadas en marcas olorosas más que en divisiones físicas, es conveniente suministrarles barreras parciales dentro de la jaula para facilitar este comportamiento. Ello incrementa la complejidad del entorno y puede aumentar la percepción del tamaño de la jaula por los ratones.

La colocación de tabiques verticales en un nuevo entorno parece reducir el comportamiento de temor o ansiedad de algunas cepas de ratones (Boyd y Love 1995). Pueden tener más altura que los tabiques horizontales, por lo que tal vez sean una representación de las madrigueras o satisfagan un comportamiento de búsqueda de las paredes relacionado con la cantidad de luz. Se han utilizado tanto tabiques opacos como transparentes, con resultados parecidos (Chamove 1989). Existen varios disponibles comercialmente.

Refugios y cobijos. Los ratones utilizan estructuras como tubos, latas y botellas de agua vacías para esconderse o dormir dentro, y algunas cepas, como letrina. Los tubos de cartón son especialmente versátiles, por cuanto proporcionan ocasión para trepar, roer y manipular. Existen también indicios de que los

ratones buscan cobijo en tubos u otros refugios al intentar capturarlos o cuando se asustan. Por tanto, los tubos estrechos serán muy útiles, ya que permitirán sacarlos de la jaula.

La estructura de cualquier complemento es importante ya que, por ejemplo, los elementos suplementarios con pocas aberturas pueden aumentar la agresión entre los ratones macho (ej. Haemisch *et al.* 1994).

El efecto de diferentes materiales o la diferencia de diseño, varía según la cepa. Por ejemplo, algunas cepas de ratones diferencian entre cajas nido hechas de distintos materiales (Van de Weerd *et al.* 1998b) o que difieran en la forma (Buhot-Averseng 1981), mientras que otras cepas no muestran preferencia por determinados diseños de refugios o por tubos opacos o transparentes (Sherwin 1996).

En los estudios de toxicidad se pueden emplear complementos de la jaula diseñados especialmente para ello. Un refugio de plástico opaco o rojo (por ejemplo, opaco para el ratón) proporciona un elemento enriquecedor del entorno de fácil limpieza. El enriquecimiento se puede incluso realizar en jaulas metabólicas. McSherry (1997) demostró se podía utilizar una variedad de mobiliario para las jaulas metabólicas, incluyendo una estantería, una caja y una tubería, sin afectar esto a la recogida de orina.

Todos los complementos de la jaula deben carecer de toxicidad y ser fáciles de limpiar o ser desechables.

Recomendaciones:

- **Se recomienda el suministro de complementos tales como particiones, barreras, refugios y cobijos dentro de las jaulas, ya que esto incrementa el abanico de comportamientos, permitiendo que se utilicen diferentes áreas para diferentes comportamientos.**
- **La estructura de los complementos de la jaula no debería ser tal que aumente la agresión. Se deben proporcionar suficientes cobijos, refugios o aberturas para evitar cualquier comportamiento agresivo.**
- **Los complementos no deben ser tóxicos y ser de fácil limpieza o desechables.**
- **Debe evaluarse la utilización de cualquier complemento para asegurarse de que no produce efectos nocivos en los animales.**

4.2 Enriquecimiento nutricional

Se puede utilizar comida variada, empleando diferentes sabores y texturas para

enriquecer la existencia de los ratones. Así mismo, se puede manipular la comida de diferentes maneras, lo que puede incrementar la diversidad del comportamiento.

Generalmente, se considera más apetitosa una dieta expandida que una granulada (pellet), posiblemente debido a las diferencias en la textura y en el sabor. Se pueden incorporar alimentos en pequeñas cantidades para que proporcionen diversidad, como las semillas, legumbres frescas, fruta y pan. Sin embargo, se debe evaluar el efecto de cualquier variación en la dieta, para asegurarse de que no se producen efectos adversos en los animales (como una falta de ganancia de peso o problemas nutricionales) o en la ciencia misma. Por ejemplo, ya que la dieta puede afectar las marcas olorosas, los resultados de los experimentos sobre el comportamiento podrían verse modificados (Brown y Schellinck 1992).

Otro aspecto enriquecedor sería "hacer trabajar" a los ratones para obtener comida. En la naturaleza, los animales se ejercitan buscando comida, por consiguiente, la facilidad para conseguir comida en las jaulas puede inhibir su actividad general. Esto, junto con la alimentación *ad libitum*, hace que muchos ratones de laboratorio padezcan obesidad, con una disminución de la expectativa de vida.

Recomendaciones:

- **Contemplar incluir variaciones en la dieta estándar para incorporar comida con diferentes sabores y texturas, sin dejar de controlar los posibles efectos adversos.**
- **Se debe observar a los animales para hallar posibles signos de obesidad y disminuir la ingesta de comida, en caso de que esto suceda.**

4.3 Establecimiento de grupos sociales

Los ratones son animales sociales y, siempre que sea posible, deben alojarse formando grupos sociales estables y en armonía. No existe generalmente ningún problema en hacerlo con animales jóvenes, ni con hembras no reproductivas. A pesar de que pueden darse agresiones, siempre que estén cuidadosamente seleccionados, con sujetos que juntos formen grupo, cualquier conflicto quedará "ritualizado", con lo que se evitarán lesiones entre los animales. Agrupar machos juntos constituye un problema, fundamentalmente en pequeños grupos de dos o tres (Evans y Brain 1975). Con todo y con eso, sería importante conseguir agrupar satisfactoriamente los machos, ya que de este modo podría dárseles

una mayor utilización, reduciendo las pérdidas derivadas de utilizar un único sexo.

La conflictividad que se puede producir depende mucho de la cepa, pero existen otros factores, entre los que se incluyen la edad de los animales, la experiencia del individuo, el tamaño del grupo y de la jaula y la colocación de esta, que presentan también una influencia crítica (Brain y Parmigiani 1990). Se puede reducir el conflicto proporcionando un ambiente enriquecido. Es indispensable una observación minuciosa del comportamiento de los animales.

Formación del grupo. La formación de un grupo no es simplemente añadir sujetos. Cada animal juega un papel en el grupo, dado a menudo por su edad, sexo, jerarquía o condición reproductiva. Esto ha de tenerse en cuenta cuando se seleccionen los animales para formar grupos y cuando se diseñen las jaulas para acomodarlos.

Como principio general, es recomendable comenzar con los animales recién destetados que se conocen entre sí. Sería conveniente obtenerlos del criador preagrupados desde el destete. Los grupos de un solo sexo están mejor establecidos hasta la pubertad, ya que a partir de ese momento las agresiones aumentan, fundamentalmente entre machos desconocidos (Barnard *et al.* 1991). Los grupos se deben crear en jaulas limpias, debido a que las señales olfativas hacen que los ratones huéspedes ataquen a los nuevos que "invaden" su territorio, aunque el olor de machos desconocidos también puede producir agresiones (Brown 1985a). Justo después del agrupamiento de los animales y después de reagruparlos tras la limpieza, habrá siempre que observarlos.

El tamaño máximo del grupo está parcialmente determinado por el tamaño de la jaula y por el diseño del proyecto experimental, así como por la edad de los animales. En grupos muy pequeños (sobre todo cuando se trata de dos machos) los subordinados pueden sufrir gran estrés. El tamaño del grupo y su constitución, deben permanecer constantes. Se ha confirmado gracias a mediciones hormonales que la alteración de cualquiera de ellos es más estresante que si los mantuviéramos constantes. Cambiar a menudo a los animales a partir de grupos establecidos constituye un acto de mala praxis.

Como los ratones, especialmente los machos, no se adaptan bien a cambios repetidos de compañeros, sobre todo después de haber sido reproductores, no deberían de volver a meter en una jaula con compañeros del mismo sexo (Brain y Bowden 1978).

Recomendaciones:

- **Hay que mantener a los ratones en grupos estables y en armonía siempre que sea posible. El número de animales que debe haber por grupo, depende de una serie de factores tales como su edad, el tamaño de la caja y el enriquecimiento de su entorno.**
- **Se debe tener en cuenta que algunas cepas son más agresivas que otras y la conflictividad puede estar influenciada por muchos factores.**
- **Para establecer los grupos, es preferible emplear animales jóvenes recién destetados, obtenidos del criador.**
- **No se debe cambiar a los animales de grupo una vez que estos estén establecidos. Hay que tratar de mantener tanto el tamaño, como la composición del grupo.**
- **Se debe observar en los grupos los signos de agresividad y de ataque, especialmente justo después de la instauración inicial del grupo y de la limpieza de la jaula.**

4.4 Limpieza y marcas olorosas

Existen dos necesidades contradictorias, que son: la limpieza de las jaulas por higiene y salud y la no perturbación de las marcas olorosas.

En cuanto a la higiene, hay que saber que algunas enfermedades e infecciones del ratón se exacerbaban con atmósferas con alto contenido en dióxido de carbono y amoníaco. La formación de amoníaco varía con cada cepa, edad del animal y en diferentes partes de la jaula, como por ejemplo debajo del comedero (Eveleigh 1993). Otro factor que deteriora la salud del animal es un lecho constantemente mojado. Sin embargo, la limpieza también perturba las marcas olorosas, lo que estresa al ratón, e incluso, ocasiona conflictos pasajeros en machos agrupados. La cepa, el sexo y los factores ambientales como la iluminación, el ruido y la humedad relativa del aire también influyen en este tipo de respuesta.

Como norma general, es importante limpiar lo más eficazmente posible las jaulas, pero no debe hacerse muy a menudo. Por ejemplo, no deben usarse fragancias fuertes, ya que los olores poco corrientes pueden estresar al ratón. El tamaño de la jaula, la densidad de población, el grado de suciedad y los niveles de amoníaco, son factores que determinan la frecuencia de limpieza, así como saber si el animal está siendo criado, en stock o involucrado en algún procedimiento. El hecho de que los animales

tengan siempre un lecho seco debería de ser una regla inflexible. Como guía práctica, limpiar la jaula una vez por semana es suficiente, si la densidad de población es la adecuada.

Actualmente, existen varios métodos de limpieza:

- (a) Ubicar a los animales en una jaula limpia con el lecho limpio.
- (b) Ubicar a los animales en una jaula limpia con un 10% de lecho sucio y un 90% limpio.
- (c) Conservar la jaula anterior sin lavar, sustituyendo todo el lecho.
- (d) Conservar la jaula anterior sin lavar, eliminando las partes sucias.

No existen opiniones concluyentes acerca de cuál de ellos es el mejor método, por lo que se debe seguir investigando en este campo. El método dependerá de cada animal y de la situación. Es útil conocer la interacción existente entre las marcas olorosas y las respuestas sociales, para decidir el mejor sistema de limpieza. Gray y Hurst (1995) estudiaron este fenómeno y hallaron que reemplazando el lecho, pero conservando la tapa y la cubeta sin limpiar (ver más arriba el punto c) se producía la máxima agresividad entre los machos. Este hecho se debe, casi con toda seguridad, a que ello eliminaría signos utilizados para el reconocimiento entre los distintos miembros del grupo (Hurst *et al.* 1993), pero se conservarían las marcas de territorialidad de la jaula. No se estudió el efecto de mantener algo de lecho en la jaula (b y d). Sin embargo, las marcas olorosas son importantes en cuanto al mantenimiento de la tolerancia (Hurst *et al.* 1993), ya que si se "borra" selectivamente el olor de un miembro del grupo, como si se hubiese separado del mismo, se convierte en blanco de las agresiones. Lo que se esperaba al mantener algo de lecho es que se redujeran estas agresiones.

Según el Grupo de Trabajo, el método (a) se puede usar para todo tipo de colonias y es el mejor método para machos agresivos. Para los animales de cría serán más adecuados cualquiera de los métodos (b), (c) y (d). Es especialmente importante no molestar a las hembras ni a su camada demasiado, pues podría desencadenar un abandono por parte de la madre y dar lugar incluso a canibalismo; además, los neonatos son muy susceptibles al estrés. Por tanto, se deberá evitar limpiar la

jaula durante la primera semana de vida. Cualquiera que sea el método empleado, es fundamental observar a los animales después de limpiar la jaula, por si se aumenta el estrés o se producen peleas.

Recomendaciones:

- **Los animales deben permanecer siempre sobre un lecho seco.**
- **No hay que limpiar en exceso la jaula y estabularlos de la forma más estable posible.**
- **Después de limpiar la jaula, se debe observar a los animales por el posible aumento de agresividad.**
- **Se debe evitar molestar a las hembras que estén criando y a sus camadas.**

4.5 Estabulación de ratas y ratones en la misma habitación

Como regla general, no es recomendable ubicar a los ratones en el mismo lugar que las ratas, ya que estas últimas son sus depredadores naturales (Draghi y Brain 1993). Pueden hacerse excepciones cuando los animales han conseguido habituarse entre ellos, por ejemplo, en algunas colonias de cría.

4.6 El medio ambiente en el laboratorio: iluminación, temperatura, humedad, ruido

En varias publicaciones se muestran detalles y requisitos aprobados respecto a este tema, como por ejemplo en el Código de Prácticas del Ministerio del Interior Británico (Poole 1987, Home Office 1989 y 1995 o en el National Research Council 1996). Para los ratones es particularmente importante la iluminación y el ruido y de ello se hablará con más detalle a continuación. Debe saberse que algunas cepas poseen requisitos específicos (por ejemplo, los ratones desnudos y los *ob-ob* pueden tener dificultades con la termoregulación).

4.6.1. Iluminación

La iluminación es fundamental, porque afecta a los ciclos de actividad. Se sabe que la luz es importante para la regulación de los ciclos circadianos, la estimulación y sincronización de los ciclos reproductivos (Clough 1982) y porque puede producir lesiones en la retina, sobre todo en animales albinos. Son habituales los ciclos circadianos de 12:12 horas. Se deberían adaptar los periodos oscuros del día a las tareas de trabajo, empezando a las 15:00 h ó 16:00 h, ya

que los ratones son más activos por la noche y usando luz roja para su seguimiento (como la de las bombillas rojas de 40 ó 60 W o tubos fluorescentes de color rojo).

La intensidad de luz dentro de las jaulas es más importante que la de la habitación. Se debe tener en cuenta la distribución de las jaulas en las estanterías y en la misma habitación, ya que los estantes superiores tendrán más luz y se calentarán más. Esto se puede evitar ajustando deflectores, como hojas de metal o remates sobre las partes superiores de las jaulas. Los animales deberían de poder retirarse dentro de la jaula a lugares más oscuros; para ello se podrían añadir elementos adecuados para formar un nido. Esto es especialmente importante para animales que estén criando y para aquellos ubicados en jaulas transparentes.

Para trabajos de observación se debe de emplear luz más tenue. Pero también hay que asegurar un mínimo nivel de luz para realizar adecuadamente las tareas de mantenimiento, las inspecciones clínicas y para la seguridad del personal.

Recomendaciones:

- **Se debe mantener normalmente luz tenue, pero suficiente para realizar las tareas de mantenimiento, inspección y seguridad. Se debe utilizar luz roja para la inspección nocturna.**
- **Hay que proteger la fila superior de las jaulas de una luz excesiva.**
- **Se debe proporcionar zonas oscuras y material de anidamiento para cobijarse en la jaula.**

4.6.2. Ruido

Los ratones poseen un amplio rango de sensibilidad auditiva y los sonidos altos pueden afectarles negativamente durante su desarrollo y a lo largo de sus vidas. Los animales jóvenes pueden llegar a sensibilizarse a sonidos altos, incluyendo el ultrasonido, lo que posteriormente durante su vida, puede incrementar la incidencia de convulsiones en respuesta al sonido. Algunas cepas de ratones (por ejemplo DBA/2) son particularmente sensibles (Gamble 1982). Por tanto, en algunos animalarios, unos niveles de ruido elevados pueden ocasionar estrés e interferir en la comunicación con los demás miembros del grupo, por ejemplo, entre las madres y su camada.

Se pueden producir altos niveles de sonido durante los trabajos de mantenimiento. Los

sistemas de limpieza, las mangueras de presión, los grifos abiertos (Sales et al. 1988) y los monitores de ordenador producen ultrasonidos. Estos últimos se emplean normalmente en presencia de los ratones, pero sería preferible mantenerlos fuera de la habitación donde se encuentren los animales, o apantallarlos por ejemplo con un trozo grueso de poliestireno o goma.

Los sistemas de alarma, los teléfonos y los timbres en los animalarios deberían de funcionar a frecuencias no audibles para el oído del animal, por ejemplo por debajo de los 500 Hz. Todavía no se han identificado los límites de ultrasonido, pero sería preferible mantener los niveles lo más bajos posibles. La incidencia de ultrasonidos se puede valorar fácilmente empleando un detector de ondas que cubra frecuencias entre 20 y 100 kHz (Pye 1983).

Se ha sugerido que un ruido constante de fondo (música de radio) proporciona beneficios, ya que hace que los animales sean menos asustadizos y más fáciles de manejar, aunque parece que esta afirmación no tiene evidencia científica. La música proporciona un fondo "molesto" moderado y puede minimizar los efectos perturbadores de ruidos repentinos. Sin embargo, puede estresar a algunos animales y, en cualquier caso, no debe de ponerse muy alta. Posiblemente, una radio enriquezca más a los humanos que a los animales, pero si la satisfacción del personal es mayor, también es probable que tenga efectos beneficiosos para los animales.

Recomendaciones:

- Dentro de un animalario se debe evitar en lo posible el ruido, tanto el audible como el ultrasonido y los ruidos repentinos. La radio no se debe poner muy alta.
- Los equipos que produzcan ultrasonidos (por ejemplo los ordenadores) deben estar adecuadamente apantallados o, preferiblemente, fuera de la habitación en la que se encuentre el animal.

5. Salud y cuarentena

Existen numerosos artículos donde se puede obtener una información detallada y específica acerca de la etiología, efectos y control de las enfermedades de los ratones de laboratorio, como por ejemplo el de Foster *et al.* (1982), Poole (1987), Laber-Laird *et al.* (1996) y del National Research Council (1996).

La estabulación debe aspirar a mantener a los ratones con la mejor salud posible, para minimizar los episodios de enfermedad, riesgo de zoonosis e interferencia con los resultados experimentales. Es importante adquirir los animales con buen estado de salud para prevenir riesgos para el resto del animalario. Ello implica unas buenas prácticas de higiene. Se recomienda un periodo de cuarentena para cualquier animal nuevo que pueda plantear un problema a los ya existentes.

Puesto que la enfermedad afecta a la salud y al bienestar, se recomienda realizar regularmente una inspección sanitaria, incluyendo por ejemplo, un examen clínico y una monitorización microbiológica establecida por un veterinario. Se han publicado esquemas de monitorización de salud para animales de experimentación (FELASA 1996) y para aquellos empleados para la reproducción (LABA 1993). La susceptibilidad del animal a la enfermedad se puede ver incrementada por el estrés. Un comportamiento estereotipado, como por ejemplo giros repetitivos o el roer las rejillas (ver capítulo 3.3) pueden ser signos de un ambiente inadecuado. El refinamiento de la estabulación puede ayudar a minimizar el estrés y, por tanto, la sensibilidad a la enfermedad. No obstante, se debe tener cuidado cuando se enriquezca el medio, para que no cause ninguna lesión ni enfermedad a los animales, como por ejemplo, el daño físico o la introducción o transmisión de infecciones.

Recomendaciones:

- Se deben adquirir animales con un alto nivel de salud.
- Se debe de llevar a cabo una vigilancia regular del estado de salud incluyendo, por ejemplo, el examen clínico y la monitorización microbiológica tal y como establezca el asesor veterinario.
- Se debe de tener cuidado de que nada de lo introducido en la jaula pueda causar daño a los animales ni producir una infección.

6. Captura y manejo

Existen varias fuentes de información disponibles acerca de la captura y el manejo de los ratones (Poole 1987, IAT 1991, The Biological Council 1992).

Estos procedimientos son potencialmente estresantes (Porter y Festing 1969, Kramer *et al.* 1993). El personal debe estar formado por técnicos expertos que puedan enseñar métodos que disminuyan el riesgo de lesión y estrés en el animal y en quien lo maneje.

Algunos objetos de enriquecimiento pueden facilitar la captura de los animales por ejemplo mediante tubos, pero dichos elementos no deben hacer que el método sea más dificultoso. Es preciso establecer un equilibrio entre las necesidades de los animales y las de los usuarios. Sería frustrante organizar un medio enriquecido, para llegar a destrozarlo mientras se trata de capturar al animal.

El manejo del animal debe llevarse a cabo de forma firme, con confianza, delicadamente, inmovilizándolo, pero sin aplastarlo ni estrujarlo. Al cambiar al animal de jaula, hay que hacerlo con cuidado. Algunos centros utilizan pinzas con la punta de goma o tenazas para fotografía, cogiendo los animales por la base de la cola. Esto puede resultar menos amenazante que una mano humana y puede hacer más fácil separar y apresar a los sujetos. Manejando animales de experimentación, es esencial el conocimiento previo de cualquier actuación a la que el animal haya sido sometido con anterioridad, ante todo, si ello va a dificultar la manera en la que el animal pueda ser elevado, manejado o inmovilizado.

Existe un debate sobre si para el ratón es más estresante que se le maneje poco o mucho. Esto depende en parte de la situación. Bajo algunas circunstancias, como por ejemplo las hembras que están criando o cuando se esté estudiando el comportamiento del animal, se debería de dejar solos a los animales siempre que se les pueda observar sin problema. Sin embargo, el manejo delicado frecuente tiene la ventaja de que permite una observación más cercana de los animales y cualquier problema se detecta antes. Ello puede proporcionar una forma de enriquecimiento, en particular para animales alojados individualmente, que pueden disfrutar de un rato de socialización. Para los animales utilizados en los procedimientos, un manejo regular (al menos una vez al día) puede ser igualmente beneficioso, ya que ello acostumbra a los animales y podría permitir actuar posteriormente de un modo más fácil y, por tanto, reducir cualquier estrés asociado. Esto tiene a su vez un efecto beneficioso en los resultados y disminuye las pérdidas.

Recomendaciones:

- **Se debe manejar a los animales con confianza, con firmeza, pero con delicadeza. El personal debe formarse para ello.**
- **Antes de tratar con animales que hayan estado sometidos previamente a algún procedimiento, hay que comprobar si la naturaleza de tal procedimiento ha repercutido en la manera en la que el animal se vaya a manejar y así podremos evitar el malestar que se pueda producir.**
- **El empleo adecuado de los objetos de enriquecimiento puede hacer que la captura sea más fácil y menos estresante para los animales.**

7. Identificación

El tamaño y la similitud entre los ratones suponen que la identificación de cada sujeto sea difícil y que no exista actualmente un método no invasivo de señalización permanente. Antes de emplear cualquier procedimiento, siempre habrá que determinar si la identificación de los sujetos es realmente necesaria o si es suficiente con hacerlo de acuerdo a la jaula de origen. Se recomiendan algunos métodos no invasivos para animales que todavía estén siendo amamantados:

Métodos no invasivos semipermanentes:

- **Rotuladores:** Una aplicación, por ejemplo una franja circular en diferentes lugares de la cola, puede durar hasta 3 semanas, dependiendo de la grado de acicalamiento y de si los animales están agrupados.
- **Cortar el pelo:** Durará de 2 a 6 semanas.
- **Colorante en el pelo:** Facilita una identificación más duradera.

Se debe de tener en cuenta siempre la toxicidad potencial de las sustancias utilizadas en la identificación.

Métodos permanentes: Siempre que sea posible será mejor emplear métodos no invasivos. Hay que advertir que algunas revistas científicas tienen la política de no publicar resultados que hayan sido obtenidos a partir de métodos de identificación lesivos. Los métodos de señalización permanentes deberían siempre de ser llevados a cabo por un personal cualificado. Estos son:

- **Microchips:** Los implantes electrónicos subcutáneos que incorporan un único código de identificación de detección, mediante un lector compatible, resultan ser el medio más conveniente para la identificación permanente. Los implantes son muy pequeños y, siempre que la técnica se lleve a cabo por personal experimentado, ocasionará pocos trastornos. Puede suceder que los implantes subcutáneos migren por lo que es fundamental, tanto por razones de bienestar como por permitir la recuperación del implante, que dicho elemento se realice en la posición correcta, por ejemplo, entre las escápulas. Los implantes subcutáneos no indican externamente la identidad del animal, lo que puede hacerlos inapropiados para algunas aplicaciones.
- **Tatuaje de la cola:** se debería de emplear un anestésico local en aerosol.
- **Corte y perforación de la oreja:** se debe tener cuidado al emplear punzones para que no rasguen el tejido.
- **Etiquetas de oreja:** son pequeñas, se leen difícilmente y pueden resultar molestas para los ratones o engancharse en la jaula.
- **Señalización con machas de nitrógeno líquido:** útil para marcar cepas pigmentadas.

Recomendaciones:

- **Determinar si es necesario marcar a los animales.**
- **En los animales neonatos hay que utilizar siempre métodos no invasivos y de igual modo para el resto de animales, siempre que sea posible.**
- **Los implantes subcutáneos proporcionan el método más satisfactorio de identificación permanente.**
- **La amputación de los dedos no debe realizarse nunca.**

8. Equilibrio entre el suministro y la demanda.

Una consideración importante a tener en cuenta cuando se estén diseñando los experimentos, es la disponibilidad y el tiempo de entrega de los animales que se necesitan. El tamaño de las colonias de cría y las pérdidas (por ejemplo, debido a los animales excedentes no vendidos o posteriormente empleados como reserva para la cría) se podrían disminuir notablemente si se lograra una mejor

aproximación entre las necesidades y los pedidos. Esto tiene ventajas tanto económicas, como para el bienestar de los animales.

Los ratones empleados en los procedimientos son criados y suministrados bien por el propio animalario, o bien por empresas suministradoras. Las colonias comerciales más grandes son las más eficaces debido a la magnitud y al ahorro de su producción. Las colonias más pequeñas son bastante menos eficaces, y en algunos centros la tasa de pérdidas puede alcanzar hasta un 50%. Esto podría ser considerablemente reducido si los usuarios mejoraran su previsión en el proyecto. Es importante planificar los procedimientos y hacer los pedidos con bastante antelación para que los criadores puedan ajustar su producción (tal vez los suministradores puedan proporcionar incentivos para una planificación a largo plazo). Es poco realista, por ejemplo, esperar que se pueda disponer de aquellas cepas normalmente menos utilizadas, si el pedido se realiza con poca antelación. Si se precisan ratones de 6 semanas, sería razonable realizar el pedido con una antelación de 10 a 12 semanas permitiendo así organizar el tiempo para la reproducción, gestación y destete. El periodo de recuperación y de cuarentena después de la llegada de los animales también tendrá que ser tenido en cuenta.

También se producen pérdidas al solicitar animales de un solo sexo. La necesidad de utilizar únicamente un sexo debe cuestionarse solamente desde el punto de vista científico y no desde el práctico o por la costumbre.

Una buena comunicación acerca de la disponibilidad de animales en un animalario reducirá pérdidas posteriores. Si se van a sacrificar los excedentes, se debería de hacer todo lo posible por emplearlos para trabajos *in vitro* o como comida para animales del zoológico y, de ese modo, disminuir una cría específica con estos fines. Algunos suministradores ya lo hacen.

Antes de encargar animales, hay que asegurarse siempre de que se posee del suficiente espacio para alojarlos.

Recomendaciones:

- **Se debe utilizar el tipo de suministro que incurra en menos pérdidas.**
- **Es imprescindible hacer una buena planificación de los experimentos que prevea las necesidades de animales de la forma más**

precisa posible y con tiempo suficiente para encargarlos. Una planificación anticipada conduce a una producción planificada y consecuentemente, a menores pérdidas.

- **Debemos cuestionarnos la necesidad científica y práctica de utilizar un solo sexo.**
- **Se debe conseguir una tasa de pérdidas no superior al 10%.**
- **Antes de encargar animales, hay que asegurarse siempre de que se dispone de suficiente espacio para alojarlos.**

9. Transporte

El transporte de animales está potencialmente lleno de peligros, ya se trate de un transporte externo (de una institución a otra) o *in situ* (dentro y entre animalarios, edificios, plantas, habitaciones, unidades de barrera y aisladores). LABA y LASA (1993) publicaron unas guías sobre transporte, pero no había ninguna indicación en cuanto a la recepción de animales y su posterior transporte *in situ* (Tuli *et al.* 1995). Es por tanto esencial, contar con un protocolo normalizado de trabajo bien definido, claramente expuesto y que se cumpla con exactitud. Todo el personal debe conocer su papel y lo que se espera de ellos. Es imprescindible tener unas líneas de comunicación tanto con el transportista como con el destinatario, para poder evaluar cualquier información relevante que se produzca.

9.1 Aclimatación

El transporte, incluso el de corta distancia, puede producir estrés en el animal, afectando su fisiología (Weisbroth *et al.* 1977, Landi *et al.* 1982, Tuli *et al.* 1995, Van Ruiven *et al.* 1996) por lo que, cuando los ratones son comprados o son transportados entre animalarios antes de llevar a cabo nuevos procedimientos con ellos, se les debe de dar un tiempo suficiente para recuperarse del estrés al que han sido sometidos por el transporte y aclimatarse al nuevo entorno. Una vez que los ratones llegan a su destino, se les debe permitir un tiempo mínimo de aclimatación de 5 días, siendo necesario más tiempo dependiendo de las necesidades de cada cepa y del tipo de viaje. Después de un transporte *in situ* se deben dejar 24 horas.

Se recomienda suministrar comida y agua durante el transporte ya que puede acortar el periodo de adaptación (Weisbroth *et al.* 1977,

Van Ruiven *et al.* 1996). Peters y Bywater (1983) dieron algunos ejemplos de cómo se puede realizar esto.

9.2 Recogida y entrega de animales en o a un lugar

Los vehículos de transporte por carretera deben estar preparados para tal propósito, por ejemplo poseer aire acondicionado y estar diseñados para el transporte de animales. No deben emplearse para el transporte de animales vehículos privados. Otros principios generales son:

- Asegurarse de que se siguen las directrices del LABA/LASA.
- Estar preparado para posibles problemas.
- Asegurarse de que todos los números de teléfono necesarios están disponibles en cualquier momento.
- No intentar nunca recoger ni entregar roedores de áreas en cuarentena de aeropuertos sin tener experiencia. Cuando sea viable, es mejor pagar a un experto para que arregle los permisos necesarios de importación / exportación y para recoger / entregar los roedores de / a el aeropuerto.
- Hay que asegurarse de la hora de llegada / salida con antelación y que existen planes de emergencia para solventar retrasos imprevistos.
- Conocer las regulaciones nacionales e internacionales y los convenios sobre transporte de animales (Comisión Europea de 1995, Normas de la IATA sobre transporte de animales vivos de 1997) además de asegurarse de que son aplicadas.

9.3 Recepción de animales

Se debe evitar el uso de zonas de almacenamiento general para la recepción de animales y asignar preferentemente zonas con temperatura controlada.

Las entregas deben acordarse previamente con el remitente, conociendo los tiempos estimados de llegada. Debe avisarse con antelación si se va a producir una entrega fuera del horario de trabajo, por ejemplo en horas demasiado tempranas o tardías, ya que es poco probable que los animales puedan ser realojados por el remitente si no se puede aceptar la entrega, lo que significaría su pérdida. Todos los documentos, firmados, deben estar disponibles para su inspección.

Los animales sólo deben ser recibidos o despachados por personal formado para ello

(por ejemplo debe haber una persona que se encargue de evitar dilaciones y con ello minime el estrés al animal). Se debe establecer el tiempo máximo entre la entrega y el alojamiento en la jaula. Este tiempo no debe ser mayor de una o dos horas. Los animales nunca deben estar desatendidos.

Los animales siempre deben ser examinados cuidadosamente a su llegada, revisando el interior de la caja por si quedara algún animal, alguna cría recién nacida o abortada durante el viaje, o hubiera alguno individuo muerto o enfermo. Se debe de dejar constancia e indicar el estado general de salud. Se debe notificar inmediatamente al veterinario y al proveedor cualquier problema que pueda surgir.

Debe indicarse claramente el nombre de los responsables en caso de emergencia y cómo contactar con ellos.

9.4 Traslado in situ

Los problemas para los animales pueden derivar de: Contenedores inapropiados, ruido (por ejemplo por politeno rígido, bolsas de plástico, carritos metálicos y/o contenedores), vibraciones, uso de ascensores, mecanismos para pasar barreras, cambios repentinos en el ambiente (temperatura, luz, humedad relativa del aire) y contaminación microbiológica. El personal puede verse afectado por alergias y microorganismos de los animales.

9.4.1 Contenedores

Es importante el tipo de sistema de contención. Debe ser a prueba de escapadas y causar el mínimo estrés a los animales. Siempre que sea posible, los ratones deben ser trasladados en sus propias jaulas, o en un contenedor abierto o cubierto, por ejemplo, con una tapa de filtro. Para prevenir el derrame de agua y empapar el lecho, se debe de retirar los biberones hasta llegar a destino. Para transportes de periodos más largos, por ejemplo, cuando los animales tienen que ser enviados fuera, hay que suministrarles líquidos "sólidos" tales como agar (gel), fruta o patata.

Para el traslado a través de pasillos, los animales deben guardarse en cajas con filtros o en jaulas con filtro para protegerlos del ambiente externo y para proteger al personal de los alérgenos. Si las cajas o las jaulas tienen que colocarse en otros contenedores, habrá que evaluar los riesgos adicionales y los factores de estrés, especialmente si no vemos desde fuera

los animales. Por ejemplo, si las jaulas se introducen en bolsas de plástico para su protección, el ruido producido por el movimiento de las bolsas puede causar un importante malestar a los animales. Los contenedores metálicos utilizados para almacenar cajas o jaulas, también pueden producir un estrés indebido a los animales, por culpa de súbitos aumentos en los niveles de ruido.

Si no hay otra alternativa que colocar los animales en contenedores sellados, por ejemplo para pasar a través de barrera, hay que tratar esta operación como potencialmente peligrosa para los animales y obrar en consecuencia.

Cuando el desplazamiento suponga sacar a los animales al exterior, por ejemplo entre edificios, las fluctuaciones en el ambiente pueden producir gran malestar, especialmente en invierno. Los sistemas de contención deberían asegurar temperaturas constantes. Debe utilizarse un contenedor bien aislado añadido a la caja de transporte con abundancia de lecho.

9.4.2 Carritos.

Los carritos deben diseñarse para minimizar el ruido. Las ruedas neumáticas son una ventaja, como también lo son las esteras de goma para cubrir los estantes. (Advertencia: no se recomienda llevar cajas en la mano por la posibilidad de tropezar y soltarlas). Cuando los animales son desplazados habitualmente, se recomienda desarrollar un equipamiento especializado, tal como un aislador con ruedas. Para asegurarse que no se producen nuevos problemas, no se debe introducir ningún cambio en el sistema.

9.4.3 Ascensores.

Transportar animales en ascensores puede resultar estresante por lo que puede ser necesario un periodo de recuperación por la noche. Deben evaluarse los niveles de ruido del ascensor, esto incluye el tipo y funcionamiento de las puertas, el motor del ascensor y el movimiento dentro del hueco del ascensor. Para evitar problemas debemos pasar por las plantas utilizando una llave manual o cerrando las puertas manualmente con cuidado. La entrada al ascensor debe estar restringida cuando en él se estén transportando animales.

Siempre que sea posible habrá que estudiar el itinerario para determinar los niveles de sonido, incluyendo los ultrasonidos que puedan existir.

9.4.4 Procedimiento de descontaminación.

Si hay que recibir los animales detrás de una barrera a través de una ventanilla, hay que fijar un método de descontaminación que no resulte estresante para los animales. Esto podría suponer limpiar la parte exterior de la caja y echar un desinfectante en la cámara. Tiene que calcularse el tiempo de espera fuera de la cámara y tiene que haber una persona dentro de la barrera al cuidado de todo el procedimiento. Se debe encontrar un equilibrio entre la salud a largo plazo de los animales y el estrés producido a corto plazo por el procedimiento.

Recomendaciones:

- Hay que asegurarse de que se siguen las directrices de LABA/LASA.
- Los animales tienen que poder aclimatarse a un nuevo ambiente durante un mínimo de 5 días tras su llegada y antes de su utilización en los procedimientos.
- Hay que contar con un protocolo normalizado de trabajo bien definido para el traslado *in situ*.
- Siempre que sea posible los ratones deberían ser transportados en sus jaulas dentro de un adecuado sistema de contención diseñado para reducir el estrés, especialmente el relacionado con el ruido y las vibraciones.
- Cuando los animales sean colocados en contenedores sellados, por ejemplo para atravesar una barrera, se debe tratar esta operación como potencialmente de alto riesgo. Todos los contenedores tienen que ser claramente etiquetados y poseer una ventanilla para su observación.
- Debe lograrse que el tiempo de transporte sea el mínimo y permitir la aclimatación durante 24 horas después del traslado *in situ*.

10. Animales en los sistemas de contención

La necesidad de jaulas más especializadas, requerimientos más rigurosos para la salud y seguridad del hombre y la necesidad de reducir espacio y con ello costes, han llevado a diseñar sistemas que minimizan la intervención del hombre dentro de la jaula. Ello, a cambio, ha llevado a una reducción de la interacción entre

el personal y los animales, algo que siempre se ha considerado que juega un papel importante en las buenas prácticas de estabulación.

Entre las jaulas o sistemas diseñados para prevenir zoonosis, infecciones cruzadas o proteger de alergias o carcinógenos, se incluyen los aisladores de presión positiva y negativa, las jaulas con ventilación independiente, las jaulas con filtros y los armarios ventilados.

10.1 Aspectos a considerar

10.1.1 Interacción reducida entre el personal y los animales

El personal está físicamente separado de los animales, porque las jaulas se guardan a menudo en armarios, las tapas de las jaulas sólo se pueden quitar en una cabina de flujo y, a menudo, se utilizan guantes fuertes para manejar los animales o el equipamiento. Además, los animales no reciben demasiada atención cuando lo único que se hace es apagar o encender el equipo.

10.1.2 Visibilidad limitada

Puede resultar difícil ver dentro de las jaulas si no las sacamos de las estanterías o los armarios. La visibilidad queda más limitada cuando las estanterías son altas y puede hacer falta una escalera para alcanzar la fila superior. En estos casos debe existir un sistema que asegure que los animales sean inspeccionados regularmente.

10.1.3 Espacio y diseño

El diseño y el coste de los actuales sistemas de estanterías, limitan el espacio disponible para aumentar el tamaño de las jaulas y la flexibilidad de cambiar el diseño de las mismas, es decir, estos sistemas conducen a aumentar la estandarización de las jaulas.

10.1.4 Medio ambiente

Un aislador tiene su propio microambiente interno y no se debe entender que sea el mismo que el ambiente externo que lo rodea, por lo tanto hay que tratarlo como una habitación individual. Es importante disponer de un sistema de detección de cambios en el microambiente, aunque no se aconseja relegarlo exclusivamente a los monitores automáticos.

Temperatura: La temperatura dentro de los aisladores puede ser algunos grados más alta que la del entorno, debido al calor corporal de los animales, el desprendido por los motores o una mala ventilación. Se debe registrar la temperatura máxima y mínima interna y mantener la temperatura de la habitación constante a fin de proporcionar unas condiciones ambientales óptimas dentro del aislador. La temperatura interna se puede ver afectada por el flujo de aire, produciéndose corrientes de aire.

Humedad relativa: Se debe monitorizar y registrar la humedad relativa en el interior del aislador, aunque ello refleje generalmente la humedad relativa que rodea al mismo. El agua que chorrea de los biberones dentro del aislador incrementará la humedad relativa.

Fallo del aislador: Todo aislador debe tener dos ventiladores, uno extractor y otro impulsor de aire. Este sistema es preferible a uno de motor único, ya que las renovaciones de aire por hora, pueden variarse sin cambiar la presión y, si fallara un motor, se podría seguir introduciendo el aire con el otro. En caso de avería total del sistema, un aislador lleno de ratones generalmente contiene el suficiente oxígeno para unas 6 horas, sin que los animales se vean afectados. Es por tanto indispensable que exista un dispositivo de emergencia que funcione constantemente las 24 horas, ya sea mediante controles visuales regulares o monitores de alarma. El protocolo de emergencia debe de estar a la vista y contar con un personal cualificado disponible las 24 horas. Deben existir piezas de repuesto disponibles en todo momento.

Niveles de luz: El diseño del aislador puede afectar los niveles de luz. Se debe monitorizar la iluminación y ajustar el diseño, o bien aumentar la luz si es necesario. Si la iluminación es muy alta, los animales deben poder esconderse.

Ruido: Tanto los motores, como los ventiladores y la vibración en general pueden producir mucho ruido. Deben de inspeccionarse los motores y ventiladores deteriorados o antiguos y, si es necesario, reemplazarlos.

10.1.5 Esterilización

Si se emplean desinfectantes o productos de fumigación en el puerto de entrada al aislador, el nivel de contaminación química en el interior del mismo puede resultar inaceptable. Se debe por tanto calcular la mínima cantidad requerida y los posibles efectos sobre los animales. No se debe utilizar ácido peracético, salvo cuando los animales estén libres de gérmenes (GF). No se deben utilizar soluciones de formaldehído al 10% salvo que el aislador se encuentre vacío y, aun así, se deben revisar los filtros por si existieran residuos después de fumigar. Se debe utilizar un aislador suplementario para esterilizar previamente los objetos que se vayan a introducir (o sacar), reduciendo el número de veces que se tenga que utilizar la puerta de entrada, para disminuir el estrés y los posibles riesgos para los ratones.

10.1.6 Procedimientos quirúrgicos

Para minimizar el riesgo para la salud de los humanos y de los animales y el estrés por el desplazamiento de los animales, es razonable la realización dentro del aislador de los procedimientos de cirugía menor utilizando anestesia general (por ejemplo la implantación subcutánea de tumores y quistes). Sin embargo, para la cirugía mayor hay que llevar a los animales a un aislador quirúrgico o a una cabina de flujo laminar. El control de la enfermedad u otros requerimientos de medidas de contención dictan, no obstante, que los animales criados o mantenidos en aisladores hay que sacarlos de ellos antes de ser sacrificados.

10.1.7 Organigrama del personal

Debe disponerse de un personal adecuado que asegure que la estabulación y las tareas técnicas se llevan a cabo correctamente, debido a que el trabajo con aisladores conlleva mucho tiempo.

Recomendaciones:

- **Existen problemas comunes a todos los sistemas de contención, por lo que cualquier de ellos debe de examinarse cuidadosamente antes de su instalación, para asegurar que no se provoca un estrés indebido a los animales. Se debe por tanto monitorizar regularmente los sistemas durante su uso.**

- Siempre que se requieran sistemas de barrera, los investigadores y el personal al cuidado de los animales deben procurar mantener unos criterios similares a los utilizados en los sistemas convencionales, como por ejemplo, los que se recomiendan en este texto para el alojamiento y cuidados.
- Los métodos empleados en la observación del animal, la limpieza de las jaulas y los procedimientos quirúrgicos que se llevan a cabo, han de ser cuidadosa y claramente establecidos.
- Debe disponerse de sistemas de monitorización para la detección de averías en el equipo y revisarse regularmente.

11. Ratones modificados genéticamente

Los principios generales de este documento se pueden aplicar igualmente a los ratones transgénicos. Sin embargo, la producción y cría de tales animales es una ciencia relativamente nueva que presenta problemas adicionales y específicos con respecto a su cuidado y manejo. Estos se relacionan con cualquier efecto adverso de concepto, esperado o inesperado; procedimientos de super-ovulación en animales donantes; apareamiento; madres adoptivas / receptoras y la cría. Estas preocupaciones se tratarán en un futuro informe del grupo de trabajo sobre refinamiento.

Cada cepa debe ser considerada por separado y sus necesidades han de ser concienzudamente valoradas y planificadas. Es fundamental una vigilancia minuciosa y continuada de cada cepa modificada genéticamente y se debe de hacer todo lo posible por asegurar un alto nivel de salud.

Recomendaciones:

- Se deben aplicar los principios generales de este documento para los animales transgénicos.
- Cada cepa se debe de considerar como una entidad y sus necesidades han de ser minuciosamente evaluadas y planificadas.
- Los animales deberían ser cuidados por personal con experiencia, que estuviera preparado para vigilarlos y de esta manera asegurar un rápido reconocimiento de cualquier problema de salud o de bienestar.

12. Ratones silvestres

Los ratones silvestres son mucho más recelosos al contacto humano que las cepas de laboratorio y, ya sea un ratón silvestre capturado o uno criado en cautividad, son más difíciles de mantener y trabajar en el laboratorio. Se debe considerar cuidadosamente su empleo y estar científicamente justificada su utilización, debido a las dificultades prácticas de su manejo, su diferente comportamiento y de que la posibilidad de estresarlos es mayor.

12.1 Alojamiento

Los ratones silvestres no se adaptan fácilmente a estar recluidos y tratarán de escaparse en cualquier momento. Un método idóneo para albergar a los ratones sería un cercado con una pared alta (al menos 80 cm más alta que el punto más alto al que alcancen saltando) incluyendo lugares espaciosos cubiertos para que descansen, aniden o se escondan dentro o, como alternativa, una red de túneles. Varios autores (Crowcroft 1966, Reimer y Petras 1967, Lidicker 1976, Poole y Morgan 1976, Van Zegeren 1980) han proporcionado útiles y diferentes ideas.

Dentro del laboratorio, los ratones silvestres pueden mantenerse en jaulas con tapas bien ajustadas. Por lo general, son más pequeños que las cepas de laboratorio. Los adultos pesan entre 11 y 26 gr y pueden deslizarse de modo sorprendente por espacios reducidos, así que hay que evitar dejar abierto el orificio de colocación de los biberones. No se pueden utilizar rejillas de 10 mm de ancho o más, ya que siempre tratarán de introducirse por ahí y pueden quedar atascados por el cuello o la cintura. Se les debe proporcionar lecho y material para anidar, así como refugios adecuados, como tubos o cajas nido (ver sección 4.1.4).

12.2 Manejo

Para evitar producir estrés a los ratones o ser mordidos, debe de tenerse especial respeto al acercarse a ellos y a cómo se les trata. Los animales deben estar situados en contra de la luz al aproximarse y manejarlos con luz roja. Ello se debe a que, generalmente, si se trata de capturar un ratón con luz normal, éste empezará a brincar angustiosamente y a tratar de escabullirse. Es primordial aproximarse con tranquilidad.

Incluso las cepas de laboratorio que se manejan habitualmente no son fáciles de coger, pero aprenden fácilmente a cooperar mediante técnicas de manejo que les eviten tener un contacto directo con los humanos, por ejemplo, permitiéndoles correr dentro y fuera de tubos o cajas pequeñas. Las cajas nido o túneles con puertas correderas o cubiertas proporcionan un método sin estrés para capturar o trasladarlos. Los tubos de plástico transparente permiten una inspección cercana, sin estrés aparente, incluso a la luz del día.

Las jaulas o cajas de manejo deben abrirse siempre dentro de un cubo de paredes altas y lisas (altura mínima 60 cm) ya que los ratones silvestres parecen un muelle dispuesto a saltar rápidamente. No obstante, después de una respuesta inicial de huida, se tranquilizan rápidamente y se ponen a explorar los alrededores. Algún pequeño refugio o un papel desmenuzado dentro del cubo de manejo, facilitarán su captura.

12.3 Salud

Se deben tomar precauciones especiales con los animales silvestres capturados. Probablemente transporten parásitos y enfermedades que pueden infectar a los humanos así como a otros animales. Deben ser puestos en cuarentena y tratados antes de ser alojados en la misma unidad que las cepas de laboratorio. Debe solicitarse siempre consejo al veterinario. Los ratones de algunas poblaciones pueden ser muy parcos en cuanto a la comida y pueden ayunar hasta la muerte, incluso aunque se les haya provisto de amplias dietas de laboratorio. La ingesta de comida debe ser cuidadosamente observada durante los primeros días en cautividad y los ratones ser gradualmente acostumbrados a las dietas de laboratorio si es necesario y posible.

12.4 Agrupamiento social

La agresividad entre la colonia silvestre es generalmente similar al mostrado por las cepas de laboratorio más agresivas. El aislamiento de los machos, aunque sea por pocos días, hace que se reduzca su tolerancia social considerablemente, por lo que los machos adultos no hermanos no deben alojarse juntos. Los machos alojados juntos antes de la pubertad pueden vivir relativamente en paz, pero la agresión puede aparecer de pronto, por lo que incluso los grupos bien establecidos deben ser continuamente vigilados.

Las hembras muestran una fuerte preferencia por vivir y anidar en grupos pequeños. Las hembras no utilizadas para cría generalmente muestran pequeñas agresiones, pero las hembras de cría pueden ser altamente agresivas con los intrusos de ambos sexos. Las hembras aisladas, a menudo muestran persistentes tentativas de escapar, incluso después de muchos meses, por lo que es recomendable que las hembras que no sean de cría sean alojadas aisladas solamente por una buena razón. Las perturbaciones provocadas por los humanos, o la presencia de personal no habitual, puede desencadenar alteraciones sociales y una cría deficitaria.

Recomendaciones.

- **No utilizar ratones silvestres a menos que sea absolutamente necesario.**
- **Los ratones silvestres deben ser siempre puestos en cuarentena y tratados antes de ser alojados en la misma unidad que las cepas de laboratorio. Evita cualquier contaminación cruzada por parte del personal.**
- **Los ratones deben mantenerse con la luz en contra y el acercamiento y manejo debe ser bajo luz roja.**
- **Las hembras que no son de cría deben alojarse en grupo, a menos que haya una muy buena razón para no hacerlo.**
- **Los machos adultos no hermanos no deben alojarse juntos e incluso los grupos bien establecidos de machos, deben ser observados continuamente.**
- **Hay que evitar dejar los agujeros de colocación de los biberones abiertos y no usar una rejilla de malla mayor a 10 mm.**
- **Debe proporcionárseles siempre un refugio y materiales para el nido como el papel higiénico desmenuzado.**
- **La ingesta de comida debe ser cuidadosamente monitorizada los primeros días de cautividad y los ratones ser acostumbrados a las dietas de laboratorio si fuera necesario.**
- **Siempre que sea posible, los ratones silvestres deben ser manejados indirectamente. Las cajas nido o túneles con puertas correderas o cubiertas proporcionan métodos no estresantes para poder cogerlos o transportarlos.**
- **El acceso a las áreas de alojamiento de ratones silvestres debe estar restringidas a un personal entrenado.**

13. Hacia un sistema ideal: Áreas de investigación

Idealmente, los animales deben tener suficiente espacio estructurado y de calidad, que les permita desarrollar un abanico de comportamientos naturales. Ello no puede ser proporcionado por las jaulas de laboratorio no enriquecidas. La información presentada en este trabajo muestra que sigue siendo necesaria mucha investigación para establecer cómo los actuales sistemas pueden modificarse para satisfacer las necesidades fisiológicas y psicológicas de los ratones en el laboratorio. Es así mismo urgente, una evaluación científica de alternativas a los actuales sistemas.

Stauffacher (1994) propone un concepto etológico para el desarrollo del alojamiento de los animales de laboratorio, el cual reconoce los requerimientos básicos del animal y es apoyado por el Grupo de Trabajo. Hay una *prima facie* evidencia de que al menos una "caja nido" o el material de anidamiento es importante para los ratones y que la posibilidad de que construyan un nido debe ser incorporado al diseño de la jaula. Existen otras áreas, donde la investigación es esencial para ayudar a diseñar un sistema mejor. Estas están recogidas a continuación:

Recomendaciones para los centros de investigación:

- **Tamaño de la jaula.** Debe establecerse un tamaño óptimo de jaula, que cubra sustancialmente las necesidades de los ratones, bien sean alojados solos o en grupo y con respecto al sexo, cría y cepa.
- **Materiales de jaula y suelos.** Deben investigarse así mismo las preferencias de los ratones por las jaulas de plástico o de metal, en conjunción con los diferentes suelos y sus efectos en el comportamiento.
- **Limpieza de la jaula.** Es necesario un estudio definitivo que determine la estrategia de limpieza más adecuada para machos, hembras y grupos de cría. Deben examinarse el comportamiento y los niveles de agresión en diferentes sistemas de limpieza. Debe evaluarse el uso de bandejas y sistemas de limpieza por aspersión.
- **Régimen de iluminación.** Hay que investigar sobre el régimen de iluminación más apropiado, incluyendo el uso de luz roja. Se debe prestar particular atención a las cepas albinas.
- **Evaluación del bienestar.** Deben investigarse las formas de evaluar el bienestar en ratones, ya que los "test de elección" tienen limitaciones.
- **Complementos en las jaulas.** Se necesita investigar sobre el beneficio de la inclusión de complementos en los distintos tipos de jaulas, junto con su aplicación práctica en distintos sistemas de manejo. Debe ser así mismo estudiada la posibilidad de desarrollar jaulas con tabiques y barreras incluidas en la construcción como una parte integral de la estructura de la jaula.
- **Sistemas de contención.** Las consecuencias de los sistemas de contención para las necesidades de bienestar del ratón necesitan inmediata investigación.

Agradecimientos. Los autores quieren agradecer a los Drs. V. Baumans y H. A. Van de Weerd por sus comentarios adicionales al texto y a Mr. D. Anderson, quien asistió como observador del Ministerio del Interior Británico.

Referencias Bibliográficas

- Barnard CJ, Hurst JL, Aldhous P (1991) Of mice and kin: the functional significance of kin bias in social behaviour. *Biological Review* **66**, 379–430
- Baumans V, Stafleu FR, Bouw J (1987) Testing housing systems for mice—the value of a preference test. *Zeitschrift für Versuchstierkunde* **29**, 9–14
- Berry RJ, ed (1981) Biology of the house mouse. *Symposium of the Zoological Society of London*, No 47. London: Academic Press
- Biological Council (1992) *Guidelines on the Handling and Training of Laboratory Animals*. Potters Bar: UFAW
- Blom HJM (1993) *Evaluation of Housing Conditions for Laboratory Mice and Rats. The Use of Preference Tests for Studying Choice Behaviour*. Netherlands: Utrecht University, p 138
- Blom HJM, Van Tintelen G, Van Vorstenbosch CJAVH, Baumans V, Beynen AC (1996) Preferences of mice and rats for type of bedding material. *Laboratory Animals* **30**(3), 234–44
- Boyd J, Love JA (1995) The effects of dividers on the nesting sites of mice. *Frontiers in Laboratory Animal Science* 2–6 July 1995, Helsinki, Finland
- Brain PF (1992) Understanding the behaviours of feral species may facilitate design of optimal living conditions for common laboratory rodents. *Animal Technology* **43**, 99–105
- Brain PF, Benton D (1983) Conditions of housing, hormones and aggressive behavior. In: *Hormones*

- and Aggressive Behavior* (Svare BB, ed). New York: Plenum Press, pp 349–72
- Brain PF, Bowden NJ (1978) Studies on the blockage of testosterone or oestradiol 17 β maintained fighting in castrated 'aggressive' mice. *Journal of Endocrinology* **77**, 37–8
- Brain PF, Goldsmith JF, Parmigiani S, Mainardi M (1982) Involvement of various senses in responses to individual housing in laboratory albino mice. 2. The tactile sense. *Bolletina di Zoologia* **49**, 223–7
- Brain PF, McAllister KH, Walmsley SV (1989) Drug effects on social behaviour: methods in ethopharmacology. In: *Neuromethods: Psychopharmacology*, Vol. 13 (Boulton AA, Baker GB, Greenshaw AJ, eds). Clifton, New Jersey: The Humana Press Inc, pp 689–739
- Brain PF, Parmigiani S (1990) Variation in aggressiveness in house mouse populations. *Biological Journal of the Linnean Society* **41**, 257–69
- Brain PF, Rajendram EA (1986) Nest-building in rodents: a brief cross-species review. In: *Crossdisciplinary Studies on Aggression* (Brain PF, Ramírez JM, eds). Sevilla, Spain: Publicaciones de la Universidad de Sevilla, pp 157–82
- Brown RE (1985a) The rodents II: suborder Myomorpha. In: *Social Odours in Mammals*, Vol. 1 (Brown RE, MacDonald DW, eds). Oxford: Clarendon Press, pp 345–457
- Brown RE (1985b) The rodents I: effects of odours on reproductive physiology. In: *Social Odours in Mammals*, Vol. 1 (Brown RE, MacDonald DW, eds). Oxford: Clarendon Press, pp 235–44
- Brown RE, Schellinck HM (1992) Interactions among the MHC, diet and bacteria in the production of social odours in rodents. In: *Chemical Signals in Vertebrates VI* (Doty RL, Muller-Schwarze D, eds). New York: Plenum Press, pp 175–81
- Buhot-Averseng MC (1981) Nest-box choice in the laboratory mouse: preferences for nest boxes differing in design (size and/or shape) and composition. *Behavioural Processes* **6**, 337–84
- Chamove AS (1989) Cage design reduces emotionality in mice. *Laboratory Animals* **23**, 215–19
- Clough G (1982) Environmental effects on animals used in biomedical research. *Biological Reviews* **57**, 395–421
- Council of Europe (1986) *European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes*. European Treaty Series No. 123. Strasbourg, Council of Europe, Publications and Documents Division
- Crispens CG (1973) Some characteristics of strain SJL/JDg mice. *Laboratory Animal Science* **67**, 555
- Crowcroft P (1966) *Mice All Over*. London: Foulis
- Daly N, Wilson M (1978) *Sex, Evolution and Behaviour*. North Scituahe, Massachusetts: Ducksbury Press
- Dhanjal P (1991) *The Assessment of Stress in Laboratory Mice due to Olfactory Stimulation with Fragranced Odours* (MSc project dissertation in toxicology). University of Birmingham
- Draghi A, Brain PF (1993) Preliminary studies on a fear/defence situation in laboratory mice. *Aggressive Behaviour* **19**, 51–2
- European Community (1986) *Council Directive 86/609/EEC 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*. OJ L.358. Official Journal of the European Communities, Luxembourg
- European Community (1994) *First report from the Commission to the Council and the European Parliament on the statistics on the number of animals used for experimental and other scientific purposes*. COM(94) 195 final. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg
- European Community (1995) *Council Directive 95/29/EC of 29 June 1995 amending Directive 91/628/EEC concerning the protection of animals during transport*. OJ L.148/52. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg
- Evans CM, Brain PF (1975) Effects of housing density and androgen administration on inter-male fighting behaviour in castrated mice. *Journal of Endocrinology* **64**, 34–5
- Eveleigh JR (1993) Murine cage density: cage ammonia levels during the reproductive performance of in-bred strain and two out-bred stocks of monogamous breeding pairs of mice. *Laboratory Animals* **27**, 156–60
- Everitt JI, Ross PW, Davis TW (1988) Urologic syndrome associated with wire caging in AKR mice. *Laboratory Animal Science* **38**(5), 609–11
- Farm Animal Welfare Council (1993) *Second Report on Priorities for Research and Development in Farm Animal Welfare*. Ministry of Agriculture, Fisheries & Food: Tolworth. PB 1310, pp 3–4
- Federation of European Laboratory Animal Science Association (1996) FELASA recommendations for the health monitoring of mouse, rat, hamster, gerbil, guineapig and rabbit experimental units. Report of the FELASA Working Group on Animal Health accepted by the FELASA Board of Management, November 1995. *Laboratory Animals* **30**, 193–208
- Foster HL, Small JD, Fox JG, eds (1982) *The Mouse in Biomedical Research*, Vol II Diseases. London: Academic Press
- Gamble MR (1982) Sound and its significance for laboratory animals. *Biological Reviews* **57**, 395–421
- Gray S, Hurst JL (1995) The effects of cage cleaning on aggression within groups of male laboratory mice. *Animal Behaviour* **49**(3), 821–6
- Guillot PVR, Robertoux PL, Crusio WC (1994) Hippocampal mossy fiber distribution and intermale aggression in seven inbred mouse strains. *Brain Research* **660**, 167–9
- Haemisch A, Voss T, Gärtner K (1994) Effects of environmental enrichment on aggressive behaviour, dominance hierarchies, and endocrine states Refining rodent husbandry: the mouse 257 in male DBA/2J mice. *Physiology & Behaviour* **56**(5), 1041–8

- Henderson ND (1970) Genetic influences on the behaviour of mice can be obscured by laboratory rearing. *Journal of Comparative Physiology and Psychology* **72**, 505–511
- Home Office (1989) *Code of Practice for the Housing and Care of Animals used in Scientific Procedures*. London: HMSO
- Home Office (1995) *Code of Practice for the Housing and Care of Animals in Designated Breeding and Supplying Establishments*. London: HMSO
- Home Office (1997) *Statistics of Scientific Procedures on Living Animals, Great Britain 1996*. London: The Stationery Office
- Hubrecht R, ed (1995) *Housing Husbandry and Welfare Provision for Animals used in Toxicology Studies: Results of a UK Questionnaire on Current Practice* (1994). Potters Bar: UFAW
- Hurst JL (in press) Introduction to rodents. In: *The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals*, 4th edn (Poole T, ed). Potters Bar: UFAW
- Hurst JL, Fang J, Barnard CJ (1993) The role of substrate odours in maintaining social tolerance between male house mice (*Mus musculus domesticus*). *Animal Behaviour* **45**, 997–1006
- Institute of Animal Technology (1991) *Handle With Care* (video) Available from Murex Diagnostics, Building 71, Central Road, Dartford, Kent DA1 5AH, £28.20
- International Air Transport Association (1997) *Live Animals Regulations*, 24th edn. Montreal, Canada
- Jones RB, Nowell NW (1973) Aversive and aggression-promoting properties of urine from dominant and subordinate male mice. *Animal Learning and Behaviour* **1**, 207–10
- Kempermann G, Kuhn HG, Gage FH (1997) More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature* **386**, 493–5
- Kramer K, Van Acker SABE, Voss HP, Grimbergen JA, Van der Vijgh WJF, Bast A (1993) Use of telemetry to record electrocardiogram and heart rate in freely moving mice. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods* **30**, 209–15
- Laber-Laird K, Swindle MM, Flecknell P (1996) *Handbook of Rodent and Rabbit Medicine*. Oxford: Elsevier Science
- Laboratory Animal Breeders Association (1993) *Laboratory Animals Breeders Association Health Monitoring Scheme*. LABAAS Manual, 5th edn. pp 22–4
- Laboratory Animal Breeders Association and Laboratory Animal Science Association (1993) Guidelines for the care of laboratory animals in transit. *Laboratory Animals* **27**, 93–107
- Landi MS, Kreider JW, Lang CM, Bullock LP (1982) Effects of shipping on the immune function in mice. *American Journal of Veterinary Research* **43**(9), 1654–7
- Lidicker WZ (1976) Social behaviour and density regulation in the house mouse living in large enclosures. *Journal of Animal Ecology* **45**, 677–97
- Livesley J (1991) *The Effect of Cleaning Out on the Behaviour of Laboratory Mice: an Investigatory Study* (MSc project dissertation in toxicology). University of Birmingham
- McSherry S (1997) A new metabolism cage design for singly housed mice. *Paper given at IAT Congress*, Exeter, 9–12 April 1997
- Millar JS, Zammuto RM (1983) Life histories of mammals: an analysis of life tables. *Ecology* **64**, 631–5
- Morton DB, Jennings M, Batchelor GR, Bell D, Birke L, Davies K, Eveleigh DG, Heath M, Howard B, Koder P, Phillips P, Poole T, Sainsbury AW, Sales GD, Smith DJA, Stauffacher M & Turner RJ (1993) Refinements in rabbit husbandry—Second report of the BVA/AFW/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement. *Laboratory Animals* **27**, 301–29
- National Research Council (1996) *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*. Oxford: National Academy Press, p. 140
- O'Donoghue PN, ed (1994) The accommodation of laboratory animals in accordance with animal welfare requirements. *Proceedings of an International Workshop held at the Bundesgesundheitsamt, Berlin*, 17–19 May 1993. Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten, Bonn, Germany
- Peters AG, Bywater PM (1983) Two methods of providing moisture for rodents in transit. *Animal Technology* **34**(1), 71–9
- Poole T, ed (1987) *The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals*, 6th edn. (Cunliffe-Beamer TL, Les EP, eds). Potters Bar: UFAW, pp 283–4
- Poole TE, Morgan HDR (1976) Social and territorial behaviour (*Mus musculus L*) in small complex areas. *Animal Behaviour* **24**, 476–80
- Porter G, Festing MFW (1969) Effects of daily handling and other factors on weight gain of mice from birth to six weeks of age. *Laboratory Animals* **3**, 7–16
- Pye JD (1983) Techniques for studying ultrasound. In: *Bioacoustics: a Comparative Approach* (Lewis B, ed), London: Academic Press, pp 39–68
- Rajendram EA (1984) *The Factors Affecting Nest-Building Behaviour in Different Species of Rodents* (PhD Thesis). University of Wales
- Read AF, Harvey PH (1989) Life history differences among the eutherian radiations. *Journal of Zoology* **219**, 329–53
- Reimer G, Petras ML (1967) Breeding structure of the house mouse (*Mus musculus*) in a population cage. *Journal of Mammalogy* **48**, 88–99
- Roper TJ (1973) Nesting material as a reinforcer for female mice. *Animal Behaviour* **21**, 733–40
- Rowan KEK, Michaels L (1980) Injury to young mice caused by cotton wool used as nesting material. *Laboratory Animals* **14**, 187
- Sales GD, Wilson AJ, Spencer KEV, Milligan SR (1988) Environmental ultrasound in laboratories and animal houses: a possible cause for concern in the

- welfare and use of laboratory animals. *Laboratory Animals* **22**, 369–75
- Sherwin CM (1996) Preferences of individually housed TO strain laboratory mice, loose substrate or tubes for sleeping. *Laboratory Animals* **30**, 245–51
- Sherwin CM, Nicol CJ (1996a) Behavioural demand functions of caged laboratory mice for additional space. *Animal Behaviour* **52** (in press)
- Sherwin CM, Nicol CJ (1996b) Reorganising behaviour in laboratory mice with varying cost of access to resources. *Animal Behaviour* **51**, 1087–93
- Southwick CH, Clark LH (1966) Aggressive behaviour and exploratory activity in fourteen mouse strains. *American Zoologist* **6**, 559
- Southwick CH, Clark LH (1968) Interstrain differences in aggressive behaviour and exploratory activity of inbred mice. *Communal Behaviour Biology* **A1** 49–59
- Stauffacher M (1994) Improved husbandry systems—an ethological concept. In: *Proceedings of the 5th FELASA Symposium*, Brighton, 1993, pp 68–73
- Strasser EG, Dixon AK (1986) Effects of visual and acoustic deprivation on agonistic behaviour of the albino mouse (*Mus musculus* L.). *Physiology and Behaviour* **36**, 773–8
- Tuli JS (1993) *Stress and Parasitic Infection in Laboratory Mice* (PhD Thesis). University of Birmingham, p 139
- Tuli J, Smith JA, Morton DB (1995) Stress measurements in mice after transportation. *Laboratory Animals* **29**, 132–8
- Van de Weerd HA, Van Loo PLP, Van Zutphen LFM, Koolhaas JM, Baumans V (1997) Preferences for nesting material as environmental enrichment for laboratory mice. *Laboratory Animals* **31**, 133–43
- Van de Weerd HA, Van Loo PLP, Van Zutphen LFM, Koolhaas JM, Baumans V (1998a) Strength of preference for nesting material as environmental enrichment for laboratory mice. *Applied Animal Behaviour Science* **55**, 169–382
- Van de Weerd HA, Van Loo PLP, Van Zutphen LFM, Koolhaas JM, Baumans V (1998b) Preferences for nest boxes as environmental enrichment for laboratory mice. *Animal Welfare* (in press)
- Van Ruiven R, HeyerGW, Van Zutphen LFM, Ritskes-Hoitinga J (1996) Adaptation period of laboratory animals after transport: a review. *Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science* **23**(4), 185–90
- Van Zegeren K (1980) Variation in aggressiveness and the regulation of numbers in house mouse populations. *Netherlands Journal of Zoology* **30**, 635–770
- Weisbroth SH, Paganelli RG, Salvia M (1977) Evaluation of disposable water system during shipment of laboratory rats and mice. *Laboratory Animal Science* **27**(2), 186–94

Sociedad Española para las Ciencias del Animal de Laboratorio



La Sociedad Española para las Ciencias del Animal de Laboratorio (SECAL), se constituyó en 1989, con carácter exclusivamente científico y sin ánimo de lucro.

Los objetivos principales de la SECAL son racionalizar y mejorar la utilización, el conocimiento y la protección del Animal de Laboratorio al servicio de la salud del hombre y de los animales, procurando que los miembros de la Sociedad ejerzan la profesión con competencia y dignidad, fomentando la relación y cooperación entre los mismos, así como difundir todas las informaciones científicas y técnicas relativas al animal de Laboratorio, a través de la organización de cursos de Formación y el

Congreso Nacional de la Sociedad que se celebra cada 2 años.

Podrán pertenecer a esta Sociedad todas aquellas personas relacionadas profesionalmente con las Ciencias del Animal de Laboratorio.

La SECAL es miembro de FELASA, Federación of European Laboratory Animal Science Associations y de ICLAS, International Council for Laboratory Animal Science. FELASA proporciona un foro único de discusión a través del cual sus miembros pueden expresar un punto de vista europeo colectivo ante Organismos como la Unión Europea, el Parlamento Europeo e ICLAS.

Para conseguir más información sobre la Sociedad, dirigirse mediante internet a la página web:
<http://www.secal.es>

Secretaría de la S.E.C.A.L.:
Facultad de Medicina de la UAM (SECAL), C/ Arzobispo Morcillo 4, 28029 Madrid.
Email: secretaria@secal.es, Tel. +34 91 497 54 76, Fax. +34 91 497 53 53.

Laboratory Animals Ltd.

Laboratory Animal Ltd. es una compañía limitada Británica con carácter benéfico no lucrativo, fundada en 1967. Su principal objetivo es la publicación de la revista *Laboratory Animals*.

Laboratory Animals publica artículos, revisados por expertos, acerca de todos los aspectos relacionados con los animales de laboratorio en la investigación biomédica. Se distribuye a más de 50 países siendo la revista oficial de varias sociedades Europeas dedicadas a las Ciencias del Animal de Laboratorio, como: FELASA (Federación of European Laboratory Animal Science Associations) LASA (Laboratory Animal Science Association), GV-SOLAS (Gesellschaft für Versuchstierkunde) ILAF (Israeli Laboratory Animal Forum) NVP (Nederlandse Vereniging voor Proefdierkunde) SECAL (Sociedad Española para las Ciencias del Animal de Laboratorio) SGV (Schweizerische Gesellschaft für Versuchstierkunde) y SPCAL (Sociedade Portuguesa de Ciências em Animais de Laboratório).



La compañía publica además monografías dentro de la serie *Laboratory Animals Handbooks*, encargándose de otras actividades, como la aportación de fondos para promover la formación en la tecnología, ciencia y bienestar del animal de laboratorio.

Laboratory Animals Ltd. está comprometida en la difusión de los principios de Russell y Burch sobre el Reemplazamiento, Reducción y Refinamiento, en todos los campos relacionados con el animal de experimentación. Además de la promoción de este concepto a través de la revista y otras publicaciones, otorga becas, financia conferenciantes en reuniones científicas y proporciona material de formación para su distribución a la comunidad científica.

La compañía está regida por un Consejo de Dirección formado por miembros de diferentes países.

Para más información sobre la Compañía o la revista incluyendo el acceso on-line puede dirigirse mediante internet a la dirección:

<http://www.lal.org.uk> o bien por fax al +44 1279 62 2573