

1-1-2015

# Características generales de bioterio de experimentación y su aplicación en control de calidad de vacuna antirrábica

Felipe Rivera Quijano  
*Universidad de La Salle*

Follow this and additional works at: [https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina\\_veterinaria](https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina_veterinaria)

---

## Citación recomendada

Rivera Quijano, F. (2015). Características generales de bioterio de experimentación y su aplicación en control de calidad de vacuna antirrábica. Retrieved from [https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina\\_veterinaria/285](https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina_veterinaria/285)

This Trabajo de grado - Pregrado is brought to you for free and open access by the Facultad de Ciencias Agropecuarias at Ciencia Unisalle. It has been accepted for inclusion in Medicina Veterinaria by an authorized administrator of Ciencia Unisalle. For more information, please contact [ciencia@lasalle.edu.co](mailto:ciencia@lasalle.edu.co).

CARACTERISTICAS GENERALES DE BIOTERIO DE EXPERIMENTACION Y SU  
APLICACIÓN EN CONTROL DE CALIDAD DE VACUNA ANTIRRABICA.

INFORME DE PASANTIA

ESTUDIANTE: FELIPE RIVERA QUIJANO

CÓDIGO: 14101039



UNIVERSIDAD DE LA SALLE

FACULTAD DE CIENCIA AGROPECUARIAS

PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA

BOGOTÁ, COLOMBIA

2015

## Tabla de contenido

<b>1. Justificación .....</b>	<b>4</b>
<b>2. Objetivos .....</b>	<b>5</b>
2.1. Objetivo General.....	5
2.2. Objetivos Específicos .....	5
<b>3. Introducción.....</b>	<b>6</b>
<b>4. Bioterios y sus características generales .....</b>	<b>7</b>
4.1. Ubicación.....	8
4.2. Ambiente.....	8
4.3. Temperatura.....	9
4.4. Humedad.....	10
4.5. Ventilación.....	10
4.6. Iluminación.....	11
4.7. Ruido .....	12
<b>5. Tipos de Bioterios en Vecol SA .....</b>	<b>12</b>
5.1. Bioterios de producción.....	12
5.2. Bioterios de pruebas .....	13
<b>6. Especies animales usados como biomodelos .....</b>	<b>15</b>
6.1. Ratones albinos ( <i>Mus musculus</i> ) CD-1 .....	15
6.2. Cobayos Hartley ( <i>Cavia porcellus</i> ) .....	16
6.3. Conejos Nueva Zelanda ( <i>Oryctolagus cuniculus</i> ) .....	17
<b>7. Manejo y cuidados de animales de laboratorio .....</b>	<b>18</b>
7.1. Ratón CD-1 .....	18
7.2. Conejo.....	21

7.3. Cobayos .....	26
<b>8. Pruebas de control de calidad .....</b>	<b>28</b>
8.1. Controles a los que debe someterse una vacuna .....	29
8.2. Prueba de control de calidad vacuna antirrábica .....	30
8.2.1. N.I.H (Prueba de potencia o eficacia inmunológica).....	30
8.2.1.1. Preparación vacunas (problema y referencia).....	30
8.2.1.2. Inmunización ratones.....	32
8.2.1.3. Desafío ratones .....	33
8.2.1.4. Interpretación resultados.....	35
<b>9. Conclusiones .....</b>	<b>37</b>
<b>10. Referencias.....</b>	<b>38</b>

## **1. Justificación**

Es bien conocido que para el desarrollo de las ciencias biológicas es necesario el uso de biomodelos, lo que conlleva a cierto grado de responsabilidad ética ya que estas prácticas en animales de laboratorio siempre van a generar discusión en varios grupos sociales, de forma que se vuelve indispensable el uso de la ética y la buena praxis dentro del bioterio, siguiendo protocolos para el manejo y el mantenimiento de estos animales

Por lo anteriormente mencionado, es indispensable demostrar y entender las técnicas de manejo y manutención que son aplicadas a los animales de laboratorio, teniendo en cuenta que estas prácticas son para garantizar el bienestar animal dentro del área de bioterio.

## **2. Objetivos**

### **2.1. Objetivo General**

-Realizar una revisión bibliográfica para comprender el manejo y la manutención de los animales de laboratorio dentro del bioterio, haciendo una profundización en la prueba de potencia para la vacuna del virus de la rabia que se realiza en ratones.

### **2.2. Objetivos específicos**

- Nombrar brevemente las especies de animales que hacen parte del bioterio, caracterizando cada una de las aplicaciones que tienen dentro del procedimiento de control de calidad de biológicos.

- Exponer cada una de los deberes y obligaciones que se tiene dentro del área de bioterio

- Dar a conocer el procedimiento a seguir para realizar la prueba de potencia (N.I.H) que se realiza para la vacuna del virus de la rabia.

.

### 3. Introducción

Los animales usados en el laboratorio conllevan cierta responsabilidad que debe ser asumida por todo el personal que tenga que ver con el bioterio, por lo que los animales deben estar libres de crueldad y recibir un buen trato.

En algunos países europeos y en Estados Unidos el uso de animales de laboratorio es una práctica que se considera obsoleta, por lo que en estos países se considera realizar cualquier tipo de prueba usando otro tipo de elementos como simuladores, maniqués y pruebas *in vitro*, así como el uso de cadáveres que han muerto de manera natural o ajena al laboratorio. Sin embargo cuando no se tienen este tipo de herramientas, es necesario contar con el uso de animales de laboratorio teniendo una justificación de peso para realizar esto, y sin olvidar que solo se pueden realizar pruebas en animales siempre y cuando eso tenga un beneficio para la humanidad y/o los animales.

La obligación de los operarios y/o profesionales encargados del área es mantener estos animales en óptimas condiciones, tratarlos de manera digna y apropiada. Es necesario que todo el personal involucrado con el bioterio, tenga capacitaciones frecuentemente para garantizar los nuevos conocimientos y actualizaciones en los sistemas de manejo y mantenimiento de animales de laboratorio, con el fin de garantizar que todo el personal del bioterio sea capaz de aplicar en su trabajo diario el principio básico de los animales de laboratorio, las 3R (Stepke, 2007)

- **Reemplazar:** buscar alternativas diferentes para realizar los estudios
- **Reducir:** usar el mínimo de animales
- **Refinar:** hacer uso de las técnicas apropiadas para evitar el sufrimiento de los animales.

El tema de la ética compromete a todos los auxiliares y médicos a cargo del bioterio. De las primeras condiciones a la hora de manejar un bioterio está el respeto por la vida, e dolor o el sufrimiento que puedan causar los trabajos o procedimientos de laboratorio.

Dentro de los cuidados especiales que se deben tener con estos animales se encuentran los cuidados sanitarios para garantizar un ambiente libre de microorganismos potencialmente patógenos, es necesario seguir protocolos diarios que permitan la eficaz desinfección y limpieza del ambiente al que se encuentran enfrentados estos animales (Stepke, 2007).

#### **4. Bioterios y sus características generales**

Los bioterios son lugares donde residen animales que cuentan con características genéticas y microbiológicas definidas. En los bioterios se crían, se mantienen y se experimenta con animales, con fines de investigación y/o docencia. En el bioterio es necesario manejar y controlar todas las variables y aspectos que hay en el ambiente, como la temperatura, la humedad, la luz, teniendo en cuenta que cada uno de estos aspectos ambientales podría intervenir en el comportamiento y alterar su fisiología, por lo que los resultados de las pruebas de investigación se verían alterados y no se podrían tener en cuenta para dicha investigación.

Según Zuluaga los bioterios son el único puente entre los datos obtenidos *in vitro* y los resultados obtenidos a partir de los estudios realizados en los animales (Cardozo de Martínez *et al.*, 2007).

En Vecol S.A hay un bioterio de producción de ratones libres de patógenos y hay otro bioterio para realizar pruebas experimentales como titulación de virus rábico, pruebas de



desafío de vacuna rábica, pruebas de inocuidad de vacuna que se realizan tanto en ratones como en conejos, pruebas de estabilidad de producto terminado (Cardozo de Martínez *et al.*, 2007).

#### **4.1. Ubicación**

El bioterio debe estar localizado en un sitio donde se encuentre aislado de todo el personal que no tenga vínculos con el mismo, de esta manera se asegura la no contaminación y se garantiza el bienestar de todos los animales cautivos en el bioterio.

Según el CCPA (consejo canadiense de protección de los animales), es necesario que el bioterio cuente con una zona que comunique al exterior, con el fin de dotar de insumos el bioterio y para facilitar la eliminación de residuos y basuras.

#### **4.2. Ambiente**

Hay muchos factores físicos, químicos y biológicos que pueden tener cierta influencia en los animales de experimentación, por lo que pueden modificar los resultados de las investigaciones.

Dentro de los factores ambientales a tener en cuenta, se encuentra la temperatura, la humedad relativa, los cambios de aire, la iluminación bien sea artificial o natural teniendo en cuenta que varios de estos animales se rigen por un fotoperiodo, la calidad del agua y su tratamiento respectivo, tipo de cama (CCPA, 1998).

### 4.3. Temperatura

Aunque las temperaturas óptimas para alojar animales no han sido del todo estandarizadas y son muy variables, es necesario tener un ambiente controlado, llevando un registro diario de temperatura ambiental en las diferentes salas que tenga el bioterio, ya que estas variaciones de temperatura tienen un efecto directo sobre las pruebas de investigación, según Vega (2002), dichas variaciones llegarían a influir en la capacidad del animal para responder a un medicamento y/o vacuna, además de la susceptibilidad que genera a enfermedades infecciosas, afecta la fertilidad y el consumo de alimento y de agua (CCPA,1998).

Según el CCPA ( Consulado Canadiense para el Cuidado Animal) la temperatura óptima para el bioterio por lo general no es la más cómoda para el personal del bioterio, sin embargo las preferencias humanas no deberían comprometer los requerimientos de salud y comodidad del animal para garantizar el bienestar animal.

La temperatura ambiental tendrá cierto tipo de variaciones dependiendo de varios factores como el diseño de la caja o jaula teniendo en cuenta el material con que se hicieron, el tipo de ventilación del área, la especie animal, la edad, el tamaño, características de la cama y la intensidad con que se realiza cambio de cama y limpieza en la jaula o caja donde se encuentren alojados (CCPA,1998).

ANIMAL	RANGO DE TEMPERATURA – C°
Ratón, cobayo, rata	20 – 26
Conejo	16 – 22

**Tabla 1. Rangos de temperatura recomendados para animales de laboratorio.**  
**Fuente: Institue of Animal Research (2011).**

#### **4.4. Humedad**

Mientras las constantes de temperatura sean constantes, los animales de laboratorio pueden aceptar variaciones desde 40% a 70% de humedad relativa siempre y cuando sean constantes, sin embargo la humedad relativa promedio y por lo tanto la adecuada para mantener dentro de un bioterio es del 50% (Vega, 2002).

En lugares donde se es difícil mantener las condiciones de humedad constantes es necesario la instalación de artefactos que regulen la humedad como deshumidificadores y humidificadores.

#### **4.5. Ventilación**

La ventilación tiene un efecto directo sobre la temperatura del bioterio, además sobre las partículas contaminantes que se encuentren en él. El índice requerido de ventilación es muy variable teniendo en cuenta, la especie, la edad, el sexo, la densidad de la población y el tamaño del animal.

Con la ventilación se quiere mantener el aire del bioterio limpio y con una buena calidad, dotando al aire con una gran cantidad de oxígeno, y liberándolo de partículas con alto poder de contaminación para los animales.

Según Vega (2002) se recomiendan unos 15 a 20 cambios de aire por hora en el área de contención de animales, para salas de alojamiento de animales pequeños como cobayos, ratones, ratas o conejos.

#### **4.6. Iluminación**

Existen diferentes características en la iluminación, la intensidad, la calidad y el fotoperiodo, siendo el último el más influyente dentro de las 3 características. El fotoperiodo es el más importante debido a que en los animales de laboratorio tiene una influencia en su ciclo circadiano y en aspectos fisiológicos, bioquímicos y de comportamiento, debido a que estos animales son estimulados y sincronizados a partir de señales neuroendocrinas generadas por la luz que reciben (Vega, 2002).

En el bioterio de producción es muy importante este factor ya que la relación que existe entre la luz y la oscuridad, está directamente relacionada con el desempeño reproductivo y la madurez sexual. Por lo cual es imprescindible usar los cronómetros automáticos para controlar la duración de exposición de luz, en todas las áreas donde se alojen animales en el bioterio (Davis citado por Vega. 2002).

#### **4.7. Ruido**

El ruido es otro de los factores a tener en cuenta y su influencia en los animales va a depender directamente de la intensidad, de la frecuencia y de la duración con que aparezca en el ambiente.

El ruido constante según Vega (2002) puede generar en los animales anomalías en su fisiología, alterando sistemas como el gastrointestinal, inmunológico, reproductivo y nervioso, así como cambios a nivel endocrino, con una excesiva liberación del glucocorticoides

### **5. Tipos de bioterios en Vecol S.A**

#### **5.1. Bioterios de producción**

Este bioterio es totalmente independiente del bioterio de prueba teniendo en cuenta que el contacto con el exterior es limitado permitiendo de esta manera que se incremente la exposición de patógenos a los animales allí alojados. El propósito de este bioterio es básicamente la producción de ratones, pasando por cría, levante hasta el destete donde son enviados al bioterio de prueba

Es importante saber que las normas del bioterio de producción son en su totalidad iguales que en el bioterio de prueba. Lo único que puede variar es la forma de alojamiento de los animales ya que en el bioterio de producción las cajas poseen un aislante térmico y de patógenos, para garantizar la temperatura adecuada en cada una de las cajas y sobre todo para

garantizar que los animales que en este lugar se crían son libres de patógenos y de infecciones altamente transmisibles (Balcome, 2006).

En cuanto a la disposición de equipos es la misma que en el bioterio de prueba, contando con un autoclave para esterilizar el concentrado, la viruta o el material usado para realizar la cama de los animales dependiendo de la especie. El personal que trabaja en esta área debe tener ropa de protección y elementos básicos como, guantes, tapabocas de partículas y gorro.

La capacitación del personal es muy importante para este bioterio, con el fin de conocer el sistema de producción de animales y realizar las labores de limpieza y desinfección, entrar al bioterio de manera adecuada teniendo en cuenta las zonas grises de cambio de ropa y las zonas blancas donde se supone es un área con una densidad disminuida de patógenos, con el fin de disminuir la carga bacteriana en esta área de ambiente controlado y de esta manera obtener ratones destetos libres de patógenos y listos para ser objeto de investigación (Balcome, 2006).

## **5.2. Bioterios de pruebas**

Este bioterio cuenta con una comunicación directa con el bioterio de producción ya que los ratones que sean destetados en el bioterio de producción deben ser pasados al bioterio de prueba sin la necesidad de salir de ninguno de los 2 bioterios, por lo cual se utilizan una esclusa o un “passthrough”, siendo este sitio el área de recepción, luego de ser recibidos en esta área los animales son ubicados en áreas de alojamiento que de antemano fueron diseñadas con

un ambiente controlado. Es importante tener en cuenta que deben estar separadas las especies allí alojadas, por lo que existen varios cuartos dentro del mismo bioterio de prueba.

El seguimiento del comportamiento de los animales en los primeros días es de vital importancia teniendo en cuenta que si el animal no se siente en confort, nunca estará apto para realizar en él una prueba investigativa, por lo que el monitoreo en estos primeros días garantiza una mejor adaptación al cambio de ambiente.

Existen otros cuartos como el de lavado y el cuarto de la autoclave, en donde se lavan todos los objetos que tienen contacto directo con el animal bebederos en prueba, como las cajas de alojamiento, y chupos para el consumo de agua de los mismos. Así mismo el cuarto de autoclave es donde esterilizan desde la cama de los animales hasta los desechos y basuras que se generan en esta área, adicionalmente también se almacenan los bultos de viruta usada como cama para los animales y el concentrado (AVMA, 2013).

Luego de realizadas las pruebas los animales que sobrevivan deben ser sacrificados, por lo cual el bioterio de prueba dispone de un cuarto de eutanasia, en donde se realiza el procedimiento de sacrificio de los animales. Es importante recordar que según AVMA (asociación americana de médicos veterinarios), durante el método de eutanasia es preciso minimizar sentimientos de ansiedad, miedo y estrés en los animales, independientemente del método que se use para realizar este procedimiento. Dentro del cuarto o sala de eutanasia existe un congelador para mantener los residuos anatomopatológicos congelados.

## 6. Especies animales usados como biomodelos

### 6.1. Ratones albinos (*Mus musculus*) CD-1



*Imagen 1. Ratón albino utilizado en pruebas de rabia e inocuidades de biológicos.  
Fuente: eju.tv*

La cría de ratones ha conducido a una gran diversidad de variedades genéticas en los últimos años cada una con una utilidad en la investigación. La variedad CD-1 de estos ratones tiene características particulares que hacen de este ratón apto para el manejo de laboratorio ya que su tamaño y su comportamiento dócil es una ventaja para el manejo del mismo. En cuanto a su capacidad reproductiva es muy buena con una gestación de 21 días y con un número de crías en promedio de 15 (Instituto Vital Brazil).

La finalidad de estos ratones en el ámbito investigativo se hace en áreas como oncología, vacunación, teratología, embriología, nutrición, reproducción, etc.

Los cuidados necesarios para estos ratones son básicos para cualquier especie. El cambio de agua, comida, cama, caja de alojamiento diariamente es una de las labores que debe cumplir el



operario encargado del bioterio, así mismo el lavado de todo este material es necesario para tener la certeza de que los ratones no se van a contagiar con una enfermedad de tipo infecciosa.

## 6.2. Cobayos Hartley (*Cavia italics*)



Imagen 2. Cobayo del bioterio de pruebas de Vecol S.A.  
Fuente: Guerra C (2009).

Lavoiser es el primer hombre en experimentar con cobayos, con el fin de determinar la producción de calor emitida por animales. Desde entonces los cobayos son considerados como uno de los animales de laboratorio más importantes de todos para realizar pruebas de producción y control de medicamentos. Los cobayos son determinantes en investigaciones de nutrición debido a la alta dependencia que tienen frente a la vitamina C (Hubrecht & Kirkwood ,2010).

En cuanto a su rendimiento reproductivo es muy eficiente debido a que su gestación solo dura 63 días, teniendo en promedio unas 3 crías por parto. Alcanzan la pubertad a las 4 -5 semanas

dependiendo de factores ambientales y genéticos, sin embargo los machos tienden a durar mucho más para alcanzar la madurez sexual siendo esta entre la 9 y la 10 semana.

### 6.3. Conejos Nueva Zelanda (*Oryctolagus cuniculus*)



Imagen 4. Conejo raza Nueva Zelanda del bioterio de pruebas de Vecol S.A.  
Fuente: Fuentes F (2010).

Estos conejos de laboratorio descenden de los conejos silvestres de Europa Occidental y el Noroeste de África, existen tres razas diferentes para fines investigativos, checkered, flamenco, siendo estas las razas de tamaño más grande con un peso aproximado de 5 kg o más, las razas como polaco y holandés son las razas de menor tamaño teniendo un peso promedio de 2 kg, mientras que la raza nueva Zelanda (la más utilizada como animales de laboratorio) tiene un tamaño medio con un peso promedio de 3.5 kg, siendo esta raza la usada en el bioterio de pruebas de Vecol S.A.

Los conejos se usan para una amplia variedad de investigaciones biomédicas, incluyendo estudios de hidrocefalia, arteriosclerosis, hipertermia, toxicología, oftalmología, y fisiología de la reproducción. Los conejos que son usados para la producción de anticuerpos tienen un tiempo de vida mucho más prolongado que los que son usados para cualquier otro tipo de prueba investigativa (Hubrecht & Kirkwood, 2010).

## 7. Manejo y cuidados animales de laboratorio

### 7.1. Ratón CD-1

El alojamiento es una de los principales factores acerca del manejo, siendo este para los ratones en cajas bien sea de plástico o metálicas. La comida y el agua son a voluntad y se ofrecen a los ratones a través de una rejilla ubicada en la superficie dorsal de la caja en donde se coloca la comida y el agua (Hubrecht & Kirkwood, 2010).



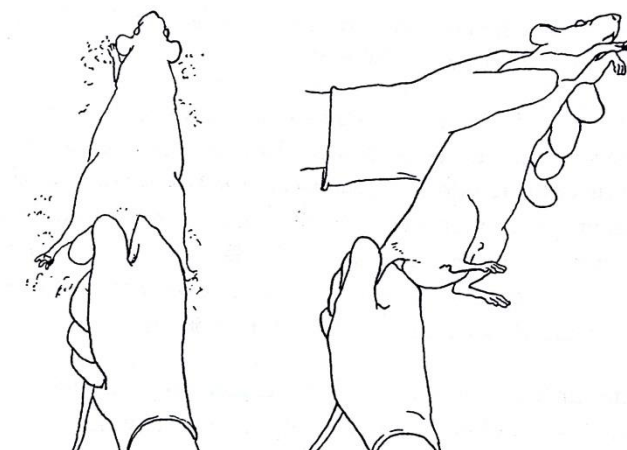
Imagen 5. Caja usada para la mantención de los ratones  
Fuente: Rivera F (2015).

El raton promedio come aproximadamente entre 3 y 6 gramos por día o 1.5 gramos de alimento por cada 10 gramos de peso vivo. La forma de ofrecer la comida es en forma de granos o pellets de 4 a 5 gr de peso. El alimento debe ser sólido y seco para que el animal pueda masticarlo ya que esto contribuye al razamiento de los dientes incisivos, que crecen continuamente. Es importante mencionar que los ratones están alimentados *ad libitum* (a voluntad), por lo que el suministro es continuo por parte de los operarios encargados del área. En cuanto al agua, los ratones en promedio consumen entre 5 y 7 ml de agua por día. El consumo de agua y de alimento debe estar completamente controlado por el encargado del área para prevenir enfermedades asociadas al bajo o alto consumo de alimento y agua.

La alimentación y el consumo de agua van a ser determinantes en el estado fisiológico del animal, ya que esto va a marcar el bienestar de los animales alojados en el área de bioterio, garantizando que las pruebas realizadas en ellos, sean 100% confiables (Hubrecht & Kirkwood ,2010).

En cuanto al agua suministrada, es a traves de botellas de vidrio. El agua ofrecida a los ratones es previamente filtrada y con recipientes limpios de antemano. El cambio de agua se realiza de forma periódica garantizando de esta manera la disminución en el crecimiento de microorganismos y otro tipo de patógenos que puedan infectar a los animales alojados en este lugar.

Para el manejo y la sujeción de estos animales es posible hacerlo por la base de la cola teniendo en cuenta que si se toma muy cerca del extremo distal, el ratón puede doblar su cuerpo para morder al que sujeta el animal. Luego de la sujeción es importante contar con una superficie rugosa con el fin de que el animal pueda realizar tracción con sus patas, para realizar la restricción del ratón



**Imagen 6. Sujeción inicial de ratones. Los ratones se sujetan por la cola con el dedo índice y pulgar. Fuente: LabDiet (2008).**

No se recomiendan superficies de apoyo lisas, pues permite un movimiento libre del animal, además de aumentar su ansiedad. De esta forma, el ratón al sentir un agarre seguro, facilita que la persona encargada de su manejo logre tomarlo por el pliegue cervical restringiéndolo en su movimiento, evitando mordidas y movimientos bruscos que pongan en riesgo el bienestar del ratón y de la persona (Fuentes *et al.*2008).



**Imagen 7. Para la restricción de movimiento del ratón, es preciso ubicarlo sobre superficies con rejillas, lo que facilita tomarlo del pliegue cutáneo del cuello, muy cerca de las orejas. Fuente: John Rivas (2015)**

## **7.2. Conejo**

El primer criterio a tener en cuenta son los requisitos de alojamiento y en estos se puede encontrar que los conejos pueden alojarse en grupos en corrales en el piso, sin embargo lo más comúnmente usado son las jaulas en donde según el tamaño del animal se puede o no poner en grupos. Para el piso de la jaula lo recomendado es hacerlos en malla con una medida de no menor a media pulgada ni mayor a una pulgada, entre cada hueco. Al fondo del piso es necesario tener una bandeja colectora de excrementos (LabDiet,2008).

El material de las jaulas debe ser un material que favorezca la limpieza y desinfección. El acero y otro tipo de metales son los apropiados para el diseño de estas jaulas. Las sustancias de desinfección que se usan en la jaula pueden ser sustancias corrosivas que con cualquier otro

material van a causar reacciones químicas, pudiendo ocasionar daños en la misma y dejando residuos nocivos para los conejos (Suckow, 2012).



**Imagen 8. Enjaulamiento de conejos de laboratorio.**  
Fuente: Fuentes *et al.* (2010).

Existe una relación entre el tamaño/peso vs el espacio/altura para el diseño de las jaulas de los conejos. Según USD (2005) los requerimientos de espacio y altura son los siguientes:

	PESO (Kg)	MÍNIMO ÁREA (m <sup>2</sup> )	MÍNIMO ALTURA (cm)
CONEJOS INDIVIDUALES (DESTETADOS)	< 2	0.14	35.56
	2-4	0.28	35.56
	4 - 5.4	0.37	35.56
	> 5.4	0.46	35.56

HEMBRAS CON CAMADA	< 2	0.37	35.56
	2-4	0.46	35.56
	4 - 5.4	0.56	35.56
	> 5.4	0.70	35.56

**Tabla 2. Requerimientos mínimos de espacio y altura de conejos en enjaulamiento. Fuente: USDA (2005).**

Para la alimentación y la hidratación es de saber que el suministro de agua debe ser a voluntad. En Vecol S.A el suministro de agua para los conejos es a través de tubería y con la ayuda de bebederos tipo niple, lo que hace que el consumo de agua sea a voluntad y asegura la recirculación del agua, por lo que hay una disminución considerable en la cantidad de patógenos y microorganismos. Los conejos beben aproximadamente 10 ml por cada 100 gramos de peso vivo, sin embargo cuando una hembra está lactando pueden consumir alrededor de unos 90 ml por cada 100gr de peso vivo (Fuentes *et al.*2008).

Para el criterio de la alimentación, según Fuentes *et al* (2008) los conejos son animales que no son exigentes con la comida. Comen alrededor de 5-7 gr de comida por cada 100 gr de peso vivo. El consumo de alimento como en todas las especies es fundamental para aspectos fisiológicos como todo lo referente a reproducción y una parte importante en la protección inmunológica, previniendo de esta manera la aparición de enfermedades infectocontagiosas.

Según Fuentes *et al.* (2010), los conejos son animales que se acostumbran fácil y no son problemáticos con el tipo de comida. Generalmente la comida para conejos se encuentra en forma de *pellets*, cuyo almacenaje debe realizarse en un lugar fresco, ventilado y limpio evitando el contacto con pisos y paredes disminuyendo el riesgo de contaminación de la comida.



La alimentación de conejos requiere de nutrientes básicos como la proteína, fibra, minerales, vitaminas y agua a diferentes escalas dependiendo de varios factores como la edad, sexo y ciclo reproductivo (Fuentes *et al.*2008).

La mayor fuente de calor para los conejos, son los lípidos, por lo que no deben faltar en la dieta normal del conejo, ya que pueden generar enfermedades de tipo dermatológico. Por otro lado se debe tener en cuenta que los conejos tienen un déficit en la sintonización de vitamina C, por lo que se hace necesario suplementar esta vitamina en el agua de consumo.

Estos animales son realmente sensibles en cuanto a su sistema musculo esquelético ya que tienen cierta predisposición a presentar fracturas, y luxaciones en las vértebras. El manejo y sujeción de estos animales es un criterio muy importante ya que permite al personal que tiene contacto con conejos, realizar esta labor de manera adecuada, protegiendo al animal de cualquier tipo de trauma y además protegiendo al personal, ya que con un buen manejo y sujeción, los animales no podrán hacerle daño al personal (Vivas.J.2009).

Para sujetar al conejo en la jaula, es necesario hacerlo con calma y seguridad. Es muy importante tener en cuenta que estos animales son muy nerviosos y por lo tanto pueden actuar de manera agresiva, por lo que es necesario evaluar el comportamiento del conejo antes de sujetarlo y retirarlo de la jaula. Cuando los conejos muestran un temperamento calmado y dócil basta con sujetarlo del pliegue cutáneo ubicado en el dorso de su cuerpo a la altura de los hombros. Sin embargo cuando el temperamento del conejo es muy agresivo es mejor cubrirlo con una manta o toalla para confundir al conejo y manejarlo de una mejor manera.



**Imagen 9. Sujeción física adecuada. Se alza del pliegue cutáneo al nivel de los hombros. Se soportan los cuartos traseros del conejo.**  
Fuente: fuentes *et al.* (2010).

La restricción de los conejos es un método para la administración de diferentes medicamentos en las diferentes vías de administración, sobre todo para la vía intramuscular y la subcutánea. Esta restricción se hace poniendo al conejo debajo del brazo, haciendo presión con el dorso, luego abrazar al conejo de la parte posterior de cuerpo, de esta manera el conejo debe estar prensado entre el brazo y el cuerpo del personal.



**Imagen 10. Sujeción que facilita la administración de medicamentos por vía intramuscular y subcutánea por parte del veterinario o investigador.**  
Fuente: fuentes *et al.* (2010).

### 7.3. Cobayos

Dependiendo de varios factores como la edad, el tamaño y sobre todo el comportamiento, los cobayos se mantienen en grupos de dos o tres en una misma jaula. El material de las jaulas en su mayoría es de plástico o en algunos casos de metal, acompañado de viruta como material para la cama, garantizando de esta manera que los animales permanezcan limpios y secos (Vivas.J.2009).



**Imagen 11. Cajas e instalaciones para el mantenimiento de cobayos en laboratorio. Fuente: Hubrecht & Kirkwood (2010).**

La nutrición consiste en hacer una buena selección y combinación de los diferentes nutrientes que componen el alimento, es por esto que los alimentos balanceados de tipo comercial ( concentrados ) son los que se usan constantemente en estos animales

Es indispensable en el crecimiento y el desarrollo de los cobayos. Las fuentes de agua que puede obtener el animal provienen básicamente del agua suministrada en su forma líquida, ya que en el alimento no hay mínima cantidad de agua debido a su conformación y producción

Los requerimientos de agua para los cobayos son de 120 cm<sup>3</sup> por cada 40 gr de materia seca consumidos (Vivas.J.2009).

Es importante mencionar que debido a la deficiencia de producción de vitamina C es conveniente suplementarla en el agua de bebida ya que su ausencia se puede ver reflejada en problemas dermatológicos y los más graves, problemas en el desarrollo musculoesquelético (Vivas.J.2009).

El método de sujeción apropiado para estos animales no es muy complejo ya que son muy dóciles y en raras ocasiones tienden a atacar, por lo cual basta solo con sujetarlos con ambas manos rodeando el pecho y para la aplicación de medicamentos es frecuente realizar presión sobre el dorso del animal y al mismo tiempo retraer el pliegue cutáneo para la administración del medicamento ( vía subcutánea)



Imagen 12. Sujeción de manera correcta para la aplicación de medicamentos. Fuente: Vivas J (2009).

## 8. Pruebas de control de calidad

Según Dellepiane (2002) el control de calidad de las vacunas siempre se ha basado en 3 componentes: control de materias primas, control del proceso de producción y el control del producto final. Es de notarse que para garantizar el buen funcionamiento y la seguridad al momento de usar el producto el control que se hace a la mayoría de vacunas es constante durante todo el proceso

El control de las vacunas se realiza a partir de biomodelos en los cuales se evalúa la capacidad antigénica del producto. Existen 3 pruebas para realizar este control de calidad; las de potencia, seguridad y las pruebas fisicoquímicas. Existen 2 formas de hacer el control de calidad, las pruebas *in vivo* en las cuales se usan animales vivos para recolectar información de la vacuna, y las pruebas *in vitro* en las cuales se quiere tener información a partir de cultivos celulares que posteriormente serán evaluados para determinar cambios citotóxicos y citopáticos. Hay una gran diferencia entre las pruebas *in vivo* vs las pruebas *in vitro* y es duración de la prueba ya que en las pruebas *in vivo* el tiempo promedio de cada prueba es de alrededor de un mes y medio, mientras que las pruebas *in vitro* los datos pueden ser

recolectados desde el décimo día siendo de esta manera más eficiente las pruebas *in vitro* (Dellepiane, 2002).

Sin embargo cabe mencionar que no en todas las vacunas se ha desarrollado las pruebas *in vitro* por lo que se siguen tomando los biomodelos vivos como método para recolección de datos. (Dellepiane, 2002).

### **8.1. Controles a los que debe someterse una vacuna.**

Según la OMS (2012), para que una vacuna pueda ser calificada como válida y pueda ser comercializada y usada es necesario que cumpla con diferentes requerimientos.

- **Precisión:** Se conoce como la variación de los resultados de acuerdo a la desviación estándar o al coeficiente de variación.
- **Exactitud:** grado de correlación con el valor verdadero
- **Sensibilidad:** capacidad del procesamiento de la prueba para detectar pequeñas variación entre las concentraciones.
- **Reproducibilidad:** precisión de los resultados del procedimiento realizándolos en diferentes ocasiones.
- **Especificidad:** característica de un método específicos que indican que no responde a ninguna otra propiedad más que la que intenta medir.
- **Robustez:** capacidad de producir resultados con exactitud y precisión bajo una cantidad de variables.
- **Titulación vacunal:** demuestra que la vacuna tiene la capacidad de mantener buena cantidad de títulos de anticuerpos, por lo que es necesario que la capacidad

antigénica de la vacuna sea elevada. La manera de medir esto es a partir de la DI 50% (Dosis infectante 50%), DL 50% (Dosis letal 50%), DTC 50% (Dosis infectante cultivo de células).

## **8.2. Prueba de control de calidad vacuna antirrábica**

### **8.2.1. N.I.H (Prueba de potencia o eficacia inmunológica)**

Para realizar la prueba de N.I.H (national institute of Health) es necesario contar con una cepa de virus rábico CVS (challenge virus standard). Es necesario que el virus sea uniforme para que permita evaluar diferentes lotes de vacunas. Para obtener los resultados acertados es necesario que los laboratorios sigan minuciosamente las indicaciones y los pasos para realizar la prueba

Además del virus rábico es necesario que el laboratorio cuente con una vacuna referencia previamente estudiada y liofilizada contendida a una temperatura de  $-60^{\circ}\text{C}$

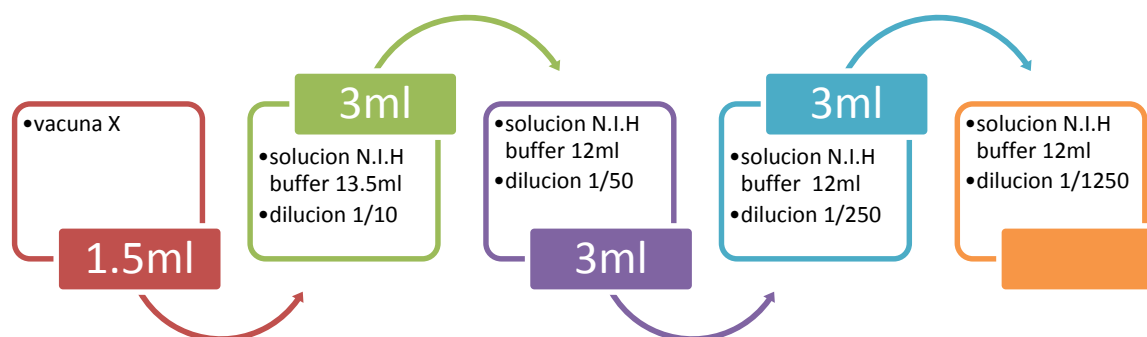
#### **8.2.1.1. Preparación vacuna (problema y referencia)**

Es necesario realizar diluciones de la vacuna problema (x) y de una vacuna referencia que cumpla con ciertas especificaciones anteriormente nombradas (Dellepiane, 2002).

La preparación de las diluciones es un procedimiento que se realiza para ambas vacunas (vacuna X y la vacuna referencia marcando de esta manera dos frascos por cada dilución realizada por lo que se tienen 2 frascos para la dilución 1/10, 2 frascos para la dilución 1/50, 2 frascos para la dilución 1/250, 2 frascos para la dilución 1/1250 para cada vacuna (vacuna X y vacuna referencia). Es necesario tener una solución llamada “N.I.H buffer”, la cual es una sustancia que permite realizar una correcta dilución de las vacunas sin que llegue a alterar

componentes biológicos de las mismas. Esta solución estará contenida en cada uno de los frascos para realizar la dilución. Teniendo en cuenta lo anterior, para realizar la dilución 1/10 de ambas vacunas es necesario que el frasco contenga 13.5 ml de N.I.H buffer, mientras que en las diluciones que faltan es suficiente con 12 ml de la solución.

El siguiente paso es tomar 1.5 ml de la vacuna X y 1.5 ml de la vacuna referencia y adicionarlos en los frascos de 13.5 ml de N.I.H buffer, de esta manera se obtiene la dilución 1/10. Luego de esto se toman 3 ml de la dilución 1/10 independientemente de las vacunas y se ponen en uno de los frascos de 12 ml de solución N.I.H buffer, obteniendo de esta manera la dilución 1/50, posteriormente se realiza el mismo procedimiento que en la dilución 1/50 para hacer las diluciones 1/250 y 1/1250 tal y como se muestra en el siguiente diagrama.





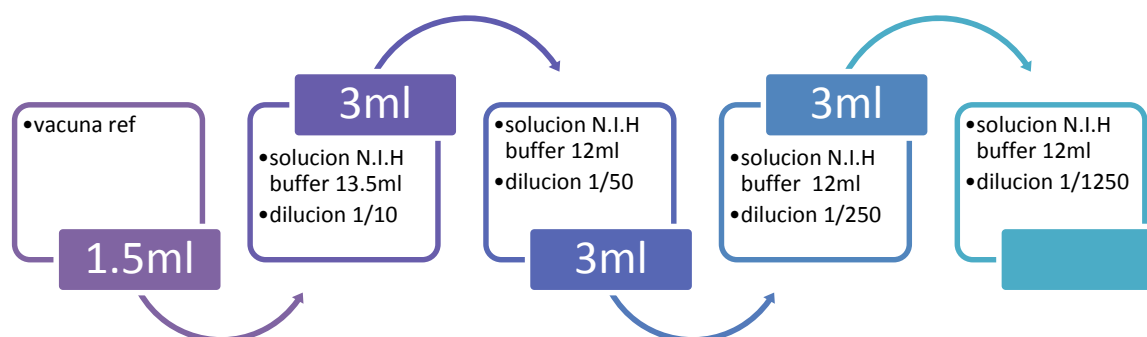


Imagen 13. Diagramas de preparación de cada una de las diluciones usadas para la inmunización de los ratones

### 8.2.1.2. Inmunización ratones

Para realizar la inmunización es necesario tener un grupo total de 184 ratones, que serán divididos de la siguiente manera. 16 cajas con 9 ratones cada una y 4 cajas con 10 ratones cada una. 8 Cajas de 9 ratones estarán destinadas a la vacuna referencia y las otras 8 para la vacuna X de tal manera que por cada dilución hay 2 cajas de ratones (18 ratones por dilución), es decir para la dilución 1/10 hay 2 cajas de ratones, para la dilución 1/50 hay 2 cajas de ratones y así sucesivamente hasta llegar a la dilución 1/1250. Las 4 cajas de 10 ratones están destinadas a control por lo que no se inmunizaran y 3 cajas de las 4 serán expuestas al virus CVS y una caja estará libre de todo (inmunización y exposición al virus).

Luego de esto se hace una inoculación intraperitoneal (IP) de 0.5 ml de cada una de las diluciones que correspondan.

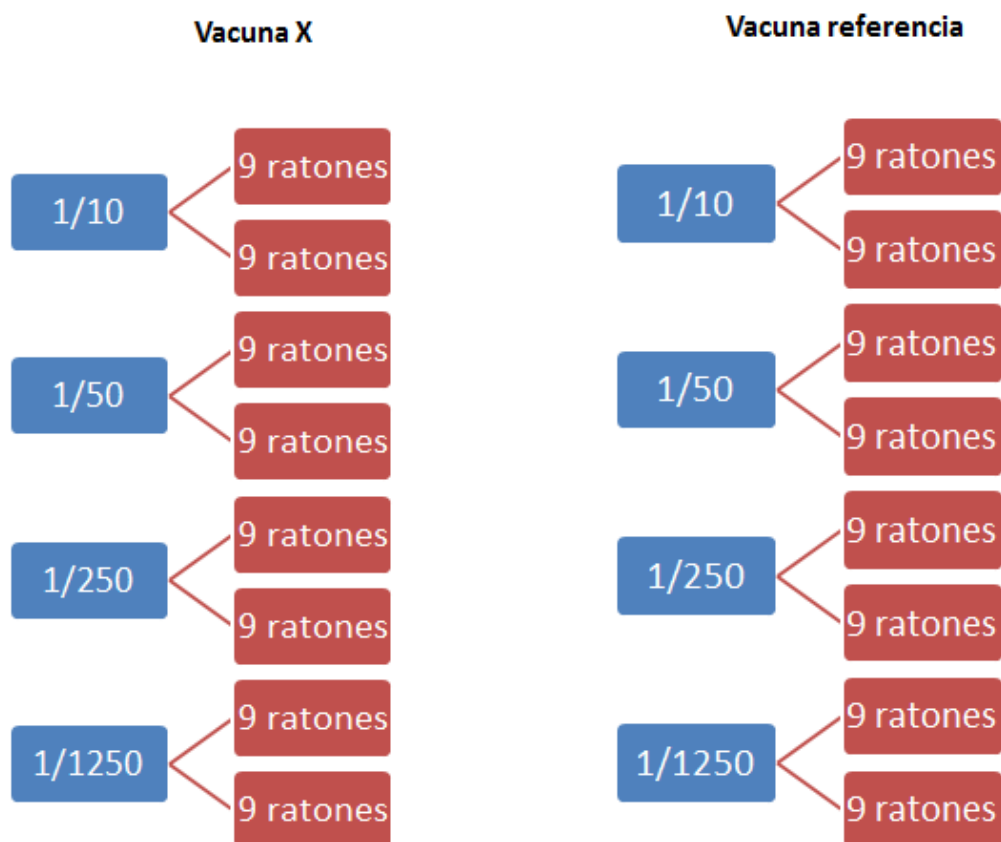


Imagen 14. Esquema de inmunización de ratones. Primera vacunación.

Luego de realizar la vacunación o inmunización se cuentan siete días para realizar una segunda vacunación o revacunación siguiendo los mismos pasos de la primera vacunación, teniendo en cuenta que los ratones de control aún no se han usado para nada

### 8.2.1.3. Desafío ratones

El desafío en los ratones se hace siete días después de la revacunación y consiste en una inoculación del virus rábico C.V.S de 0.03 ml intracerebral (IC). El virus es descongelado rápidamente bajo chorro de agua fría, luego se diluye en una relación 1/6 con suero equino al 2%. Según pruebas anteriormente realizadas del virus, debe contener entre 5 a 50 DL50 (dosis letal 50%) lo que significa que el virus tiene la capacidad de matar al 50% de la población infectada.

El desafío consiste en la inoculación intracerebral de 0,03 ml del virus C.V.S (Standar virus Challenge), el cual ha sido previamente titulado para confirmar y determinar la presencia del antígeno rábico y el cual debe ser diluido en una especificación de 12 - 50 de DLR 50 % (Dosis letal), lo que significa que la dosis del virus vivo es capaz de matar el 50 % de los ratones inoculados. Por esta razón, en muchos casos, se decide trabajar con una dosis del 35 DL, conociendo que el título del virus rábico C.V.S es de  $10^{7.5}$  DLR 50%/ 0,03 ml. De esta forma, utilizando la fórmula.

Es necesario marcar las diluciones antes de realizar el procedimiento de -1 a-6. Luego para realizar la dilución de trabajo se toma 0.5ml del virus CVS y 4 ml de suero equino al 2%, de esta manera se tiene la dilución -1. Luego se retira 0.5ml de la dilución -1 para hacer la dilución -2 y así sucesivamente hasta llegar a la dilución -6

Luego la dilución inoculada en todos los grupos de ratones es la dilución -4 con 0.03 ml IC, con los ratones destinados al control, se inyecta 1 caja con la dilución -4, 1 caja con la dilución -5 y una última caja con la dilución -6. La última caja de ratones control, no se inyecta con nada y se deja para tener un control general de la prueba.

Pasadas las 48 horas luego de la inoculación del virus, es necesario retirar un ratón de cada una de las cajas a excepción de las cajas control. Sin embargo en algunas ocasiones debido al trauma generado con la inoculación intracerebral, no es necesario retirar un ratón de la caja debido a que ha muerto por el trauma y solo es necesario tener 8 ratones en la prueba.

#### 8.2.1.4. Interpretación resultados

Luego de 14 días post inoculación del virus se hace la lectura de la prueba, con la cual se espera calcular la DLR 50%, teniendo en cuenta la cantidad de ratones vivos y ratones muertos durante la prueba. Lo primero que se debe realizar es el cálculo de la DL teniendo en cuenta la siguiente tabla.

Dilución	Muertos	Vivos	Acum.Muertos	Acum. Vivos	Muertos/Total	% Mortalidad
-4						
-5						
-6						

Tabla 3. Esquema de inmunización de ratones. Primera vacunación.

La DL de la prueba se obtiene a partir de la siguiente fórmula:

$$DP \text{ (Distancia proporcional)} = (\text{Dato Mayor a } 50\% - 50) / (\text{Dato mayor a } 50\% - \text{Dato menor a } 50\%)$$

El título corresponde a la dilución con porcentaje de mortalidad inmediatamente superior al 50 % más la DP obtenida.

Luego, DL de la prueba = Anti Log (Título del virus de la prueba – Dilución de desafío)

### Vacuna Problema

Dilución	Nº. Muertos	Nº. Vivos	Acum.Muertos	Acum. Vivos	Muertos/Total	% Protección
1/10						
1/50						
1/250						
1/1250						

**Tabla 4. Esquema de inmunización de ratones. Primera vacunación.**

Para hallar la DE 50% (Dosis Efectiva 50 %), se determina la DP :

DP (Distancia proporcional)=  $(50 - \text{Dato menor a } 50\%) / (\text{Dato mayor a } 50\% - \text{Dato menor a } 50\%)$

Luego DE 50% = Log Dilución inmediatamente anterior al 50% de protección + (DP x 0.7)

### Vacuna Referencia

Dilución	Nº. Muertos	Nº. Vivos	Acum.Muertos	Acum. Vivos	Muertos/Total	% Protección
1/10						
1/50						
1/250						
1/1250						

**Tabla 5. Esquema de inmunización de ratones. Primera vacunación.**

Las fórmulas son las mismas respecto a las usadas con la vacuna problema:

Para hallar la DE 50% (Dosis Efectiva 50 %), se determina la DP:

DP (Distancia proporcional)=  $(50 - \text{Dato menor a } 50\%) / (\text{Dato mayor a } 50\% - \text{Dato menor a } 50\%)$

Luego DE 50%= Log Dilución inmediatamente anterior al 50% de protección + (DP x 0.7)

Finalmente, la determinación del valor antigénico es:

$$V.A = (\text{Recíproco de DE50\% V.P} \times \text{Dosis V.P}) / (\text{Recíproco de la DE50\% V.R} \times \text{Dosis V.R})$$

El valor antigénico debe ser mayor a 1 U.I / dosis.

## 9. Conclusiones

El compromiso ético y moral que tienen los veterinarios en el campo de la experimentación y enseñanza con animales es enorme, ya que como animales y como seres vivos merecen calidad de vida y respeto sin importar para que fin zootécnico estén dispuestos. Los biomodelos animales son de gran importancia debido a que se realizan avances científicos a partir de la recolección de información generada por estos mismos, por lo cual su impacto en el campo veterinario es de gran importancia y su aplicación en la salud pública es uno de sus mayores beneficios en la sociedad contemporánea.

Sin embargo las investigaciones llevan a descubrir nuevas formas de recolección de información y datos, sin necesidad de usar animales vivos para este fin y de esta manera conseguir la completa erradicación en el uso de animales de laboratorio, siendo este un futuro cercano.

Por ahora los laboratorios, veterinario, y operarios de los bioterios deben garantizar unos estándares de calidad de vida para cada uno de estos animales, teniendo en cuenta que el

bienestar animal es la base para obtener resultados confiables y exactos, sin importar que tipo de prueba biológica se haga.

## 10. Referencias

- Ambrose , N. , Wadham , J. and Morton , D. ( 2000 ) Refinement of Euthanasia. Progress in the Reduction, Refinement and Replacement of Animal Experimentation . Elsevier Science , Oxford
- Barzago, M.M., Bortolotti, A., Stellari, F.F., Pagani, C., Marraro, G., and Bonati, M. (1994). Respiratory and hemodynamic functions, blood-gas parameters, and acid–base balance of ketamine–xylazine anesthetized guinea pigs. *Lab. Anim. Sci.* 44(6), 648–650.
- Balcome J. (2006). Laboratory environments and rodents behavioural needs: a review. *Laboratory Animals.* 40:217. Sage Publications.
- Cardozo de Martínez A.Mrad de Osorio A., Martínez C.,Rodríguez E., Lolas F. (2007). El animal como sujeto experimental aspectos técnicos y éticos. Centro Interdisciplinario de Estudios en Bioética (CIEB). Vicerrectoría de Investigación y Desarrollo. Universidad de Chile.
- CCPA(Consejo Canadiense de Protección Animal). Instalaciones para los animales de laboratorio.Manual I. 2da Edición.
- Dellepiane N., Griffiths E., Milstien B. (2000). Nuevos retos para asegurar la vacunas. *Bulletin of the world health organization.*
- Falconi E. (2010). Manual para el manejo de animales con fines de experimentacion y enseñanza
- Fish R.,Brown M.,Danneman P., Karas A.(2008).Anesthesia and analgesia in laboratory animals.American College of Laboratory Animal medicine Series.Elsiever.
- Fuentes F., Mendoza R.,Rivera R., Vara M. (2010). Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: conejo. Ministerio de Salud del Perú.

- Genovese P. (2012). Bioterios y Laboratorios de Experimentación Animal (LEA). Curso CHEA .Universidad de la República de Uruguay.
- Guerra C. (2009). Manual técnico de crianza de cuyes. Centro Ecumenico de promoción y accion social Norte.
- Harlan Laboratories (2009).Hsd:ICR (CD-1®). Harlan Laboratories Inc. US.
- Hau S.,Schapairo S. (2011). Handbook of laboratory animal science. Essential principles and practices. Volume I.Third Edition.CRC Press.
- Hedric H.(2012). The Laboratory Mouse.ELSEVIER.UK
- Hubrecht R., Kirkwood J. (2010). The UFAW Handbook onThe Care and Management of Laboratory and other Research Animals.Wiley-BlackWell. Eighth Edition.
- Kamphius E., Meyer H., Göpfert C., Schildger H., Hanschmann K., Krämer B., Duchow K.(2010). Rabies Vaccines for human use: Potency Testing Without mouse challenge? Paul Ehrlich Institut. Germnay.
- Kaplan M., Koprowsky H.(1976). La rabia técnicas de laboratorio. Ginebra
- Instituto Vital Brazil. Bioterios. Página: <http://www.vitalbrazil.rj.gov.br/bioterio.html>
- Institute for Animal Research (2011). Guide for the care and use of Laboratory Animals. Eighth Edition.National Research Council.The National Academy Press. Washington, D.C.
- Joyo M., Cisneros J (1999). Guia para el cuidado y uso de animals de laboratorio. Institute of laboratory animal resourses commission of life sciences national research council.
- Lobo E. (2007). Sistema de calidad en vacunas veterinarias .REDVET.Vol.VIII N°8.
- Micelli G., Nosetto E., Esteves J., Díaz AM.(2002). Determinación de la concentración de antígenos en vacunas antirrábicas de uso veterinario por una prueba inmunoenzimática. Analecta Veterinaria. 22, 2: 38-41.
- Muñoz J., Salvidar S (2010). La habilidad para sujetar y manejar animales de laboratorio no se adquiere fácilmente. REDVET. Vol XII.N°5B



- OIE. (2004). Manual de la OIE sobre animales terrestres 2004.Fuente: [www.oie.int](http://www.oie.int)
- OMS (2012). Validación de pruebas OMS.
- Pajares C. (2009). Reproducción y manejo reproductivo en cuyes (*uni*). Sistemas de Revisiones en investigación veterinaria de San marcos.UPG Veterinaria.
- USDA (United States Department of Agriculture), 2005. Animal Welfare Act and Animal Welfare Regulations. U.S. Government Printing Office, Washington D.C.
  
- Stepke F. (2007). El animal como sujeto experimental. Aspectos técnicos y éticos. Universidad de Chile.Refining procedures for the administration of substances. *Laboratory Animals* 35, 1 – 41.
- Suckow M., Stevens K., Wilson R. (2012). *The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster and other rodents*.Elsevier.First Edition. United Kingdom..
- Vega M. (2002).Caracterización de los bioterios utilizados en investigación científica. Facultad de Microbiología. Universidad de Costa Rica.
- Vivas J., Carballo D.(2009). Manual de crianza de cobayos (*Cavia Porcellus*).Facultad de Ciencia Animal. Universidad Nacional Agraria.Nicaragua.
- Zuluaga F., Salazar B., Galvis W., Loaiza S., Agudelo M., Vesga O.(2003).Fundación del primer bioterio MPF funcional de Colombia. *IATREIA*.Vol16.