

Aumento de camadas en ratas holtzman en un bioterio universitario

Increase of litters in holtzman rats in a university bioterium

Julio Campos-Florián^{1,3}; Iván González-Puetate²; Luis Ruiz-Gil³; Sandra Parra-Guayasamin²;
Percy Cruzado-Lescano^{1,3*}

^{1,3}Departamento de Farmacología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, Perú.

²Universidad de Guayaquil-Facultad de Medicina Veterinaria

^{1,3}Bioterio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, Perú.

Autor correspondiente: jcamposf@unitru.edu.pe

Recibido: 10 septiembre 2022 Aprobado: 01 noviembre 2022 Publicado: 12 diciembre 2022

Resumen

El presente trabajo de investigación se realizó en el bioterio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo entre los meses de junio de 2017 hasta agosto de 2018, tuvo como objetivo caracterizar los parámetros reproductivos en ratas Holtzman tales como su reproductividad, fertilidad, finalización de la gestación, habilidades en crianza y otros. Inicialmente se trabajó con 78 hembras, posteriormente con 48 y adicional a esto un grupo poligámico y otro monogámico, cada uno con cuatro hembras y un macho. La preñez se identificó mediante observación del crecimiento lateral del abdomen. Su alimentación consistió en 25 g entre cebada, maíz, alimento balanceado para aves por animal al día y agua. Se cumplió con los protocolos de bioseguridad del bioterio. El tratamiento 1, en grupos de 4 hembras y un macho (reproducción poligámica) se obtuvieron 117 crías nacidas y 110 al destete, Tamaño camada nacimiento (TCN) 4, tamaño camada destete (TCD) 3,8 y 94,02% de supervivencia. El tratamiento 2, en grupos de cuatro hembras y un macho, se obtuvo 193 crías nacidas y 182 crías al destete, TCN 6,7, TCD 6,3, 94,3% de supervivencia, un peso promedio individual de $23,05 \pm 1$ y 145 g por camada. En el tratamiento 1 se logró una camada de 13 (100% de supervivencia), TCD 13,371 g de peso de camada y un peso promedio individual de $28,75 \pm 1,46$ g. En el tratamiento 2 se obtuvo un TCN 13 (100% de supervivencia), TCD 13 con un peso de camada de 385 g al destete y un peso individual promedio $29,5 \pm 0,34$ g. El manejo reproductivo de un sistema de apareamiento monogámico con descansos elevados incrementa el tamaño de camada/reproducción y el peso de camada al destete.

Palabras clave: bioterio, rata, reproducción, tamaño de camada

Abstract

The present research work was carried out in the biotherium of the Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo between June 2017 and August 2018, with the objective of characterizing the reproductive parameters in Holtzman rats such as their reproductivity, fertility, gestation completion, breeding abilities and others. Initially we worked with 78 females, later with 48 and in addition to this a polygamous and a monogamous group, each with four females and one male. Pregnancy was identified by observation of the lateral growth of the abdomen. Feeding consisted of 25 g of barley, corn, balanced poultry feed per animal per day and water. The biosecurity protocols of the biotherium were complied with. Treatment 1, in groups of 4 females and one male (polygamic reproduction), 117 broods were born and 110 at weaning, litter size at birth (TCN) 4, litter size at weaning (TCD) 3.8 and 94.02% survival rate. Treatment 2, in groups of four females and one male, 193 pups were born and 182 pups at weaning, TCN 6.7, TCD 6.3, 94.3% survival, an average individual weight of 23.05 ± 1 and 145 g per litter. In treatment 1, a litter of 13 (100% survival), TCD 13, 371 g litter weight and an average individual weight of 28.75 ± 1.46 g was achieved. In treatment 2, a TCN 13 (100% survival), TCD 13 with a litter weight of 385 g at weaning and an average individual weight 29.5 ± 0.34 g was obtained. Reproductive management of a monogamous mating system with high resting increases litter size/reproduction and litter weight at weaning.

Key words: biotherium, rat, breeding, litter size

Introducción

La investigación con animales experimentales es tan antigua como la ciencia misma, razón por la cual, en la medida en que se han definido condiciones de

trabajo en el área, se han ido ajustando las políticas en investigación abriéndose así un campo de conocimiento y capacitación que brinda soporte a la investigación biológica y biomédica que requiere su uso (Cardozo y Mrad, 2008). Estos experimentos tienen su fundamento en el hecho de considerar a otras especies animales como modelos en miniatura de los problemas humanos (Rodríguez, 2007).

Gracias a la investigación en animales los científicos han descubierto maneras de sanar enfermedades y prolongar la vida humana (Rodríguez, 2007). Esto ha promovido la utilización de animales de laboratorio como herramienta científica (Romero-Fernandez et al., 2016) y ha evolucionado extraordinariamente permitiendo asistir en diversos campos de la ciencia básica y aplicada en lo que a la salud se refiere. Al buscar nuevas moléculas capaces de controlar las enfermedades del ser humano se han utilizado herramientas para medir sus diversos efectos al hacer uso del ensayo y el error, mismas que han permitido dar respuesta a un sinnúmero de preguntas relacionadas con el potencial uso de una planta o una sustancia derivada de ellas, así como la eficiencia de algún fármaco químicamente diseñado para la aplicación en animales de laboratorio (Herrera y Guzman, 2018). Estos descubrimientos y aportes nos conducen racionalmente a asumir una postura de excepcional aceptación del uso del animal en condiciones de trato y protección humanitaria para la investigación (Cardozo y Mrad, 2008).

Para los defensores de animales es esencial saber cuál es la necesidad de usar modelos animales cuando existen métodos alternativos, tales como los modelos matemáticos de simulaciones de computación y los cultivos celulares. Sin embargo, estos procedimientos pueden servir para reducir el número de animales en experimentación, pero no pueden predecir con fiabilidad el efecto de un producto químico en los sistemas de órganos combinados del cuerpo con toda la complejidad requerida; se utilizan para examinar y determinar el potencial tóxico de una sustancia en fases iniciales de investigación, reduciendo así el número total de animales requerido, pero el examen final debe realizarse en un sistema completo y vivo. La más sofisticada tecnología no puede imitar las complicadas interacciones entre células, tejidos y órganos que se dan en humanos y animales. Los científicos deben entender estas interacciones antes de introducir un nuevo tratamiento o sustancia en el organismo humano (Rodríguez, 2007).

Cabe recalcar que en este aspecto nos ajustamos a lo planteado en países como Chile en el 2009, el CONICYT, Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnología, menciona que el uso de animales de investigación, enseñanza y pruebas de seguridad biológica se consideran aceptables si contribuyen en forma efectiva a la mejor comprensión de los principios biológicos fundamentales o el desarrollo de conocimiento, considerando reprochable producir dolor de forma innecesaria a cualquier ser vivo. Así el desarrollo de estas mejoras en el bioterio nos lleva a tener animales sanos, disminuyendo el número de animales a utilizar, debido a que el uso de animales mal nutridos o enfermos en forma clínica y subclínica, mantenidos en condiciones inadecuadas de confinamiento, que se encuentren bajo situaciones de estrés en pruebas de seguridad biológica o investigación, pueden producir sin duda variabilidad de los resultados, que puede llevar a repetición innecesaria de los protocolos (Santos et al, 2009).

Dentro de la administración de Institutos o Bioterios uno de los grandes problemas puede ser la falta de documentación con respecto al registro de camadas de animales de experimentación, estableciendo faltantes en el historial de apareamientos y líneas genéticas. Determinando factores como la poca infraestructura tecnológica en el área donde funciona el bioterio, así como elementos de análisis y toma de decisiones para gestionar un sistema bajo las normas nacionales e internacionales de control animal y bajo estrictas normas de acreditación (Zuleta, 2015).

Los resultados obtenidos de animales de laboratorio como sujetos experimentales son de alta calidad, al ser fiables y reproducibles con una menor variabilidad de resultados, y mejores condiciones asociadas a los apropiados ambientes de reproducción, cría, lactancia y levante requeridas en un bioterio de producción, experimentación o docencia (Zuluaga et al., 2003). Además, se determinó que existe una estrecha relación entre la viabilidad, demanda y normatividad ambiental con el diseño y localización de un bioterio Universitario, por la alta demanda de especímenes para prácticas controladas y trabajos de titulación de estudiantes, docentes e investigadores de las cinco universidades nacionales del norte peruano (Calderón, 2020).

En el bioterio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo se viene realizando un mejoramiento en la selección de ratas Holtzman reproductoras al caracterizar su

reproductividad, fertilidad, finalización de la gestación, habilidades en crianza como calidad de la construcción de nido, recolección de materiales para su construcción, ubicación del nido e indicadores; número de crías vivas hasta finalizar el periodo de lactancia, tamaño de camada nacida, tamaño de camada al destete y otros, para de este modo lograr un mayor aprovechamiento y dar un salto científico tecnológico sin tener que hacer inversiones innecesarias y de mucho tiempo, pudiendo lograr la generación de un modelo de trabajo a bajos costos, con tecnología que cuente además, con investigadores y comunidad más sensible, reflexiva y que viera en este tema un motivo de replanteamiento de las relaciones ser humano-naturaleza frente a su legado para las futuras generaciones.

Metodología

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el bioterio universitario de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, 8,07°S y 79,2°W, provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, el cual cuenta con una Temperatura Media Anual de 18 °C, una Altitud de 34 msnm, Precipitación Pluvial Anual aproximada de 1 - 3 mm y una Humedad Relativa Anual de 70 - 75% (Wieser, 2011).

El proceso se realizó en el área de reproducción y la selección de animales (*Rattus norvegicus* cepa Holtzman) fue progresiva teniendo en cuenta el número de crías/parto, de cinco, ocho y hasta diez respectivamente. Otro factor importante que se tomó en cuenta para iniciar la incorporación en un grupo élite de reproducción fue su comportamiento en la creación de un nido, carácter dócil y finalización del periodo de lactancia con la camada completa. Primero, se sincronizó el servicio mediante la agrupación de hembras en una misma jaula y luego incorporando el macho, se registró el servicio mediante observación y se anotó la posible fecha del parto. Se identificó las hembras no gestantes, hembras con pocas habilidades en la preparación de nido, mientras que al momento del parto contamos el número de crías nacidas, número de crías que terminaron el periodo de lactancia y se hizo un descarte de hembras con características de canibalismo.

Para el registro inicial (diagnostico situacional del bioterio), se evaluaron las características reproductivas de 117 ratas, se estableció el número de crías por parto, hembras no fértiles (mediante monta), madres con pocas habilidades para criar un gran número de neonatos. Dentro de las condiciones de

selección se consideró también que las hembras deben tener evidencias de finalizar el periodo de lactancia con el mayor número de crías o mayor al promedio del bioterio. Una vez seleccionadas en base a las características antes descritas, se seleccionaron 76 hembras y 19 machos, 4 hembras y un macho por grupo con un total de 19 grupos (tratamiento 1), cada grupo estaba constituido por cuatro hembras y un macho; cada macho tuvo 4 apareamientos en promedio con cada hembra.

Debido a la metodología de selección y registro de crías nacidas producto de los apareamientos se identificó animales "elite" para realizar cruces monogámicos (una hembra y un macho), al valorar los registros y el número de crías por camada al finalizar el destete se reporta una hembra con extraordinarias habilidades maternas, estos animales se agruparon en tratamientos adicionales (tratamiento 3 y 4), con esta mejora se obtuvieron 13 crías al término del periodo de lactancia, el periodo de descanso y *flushing* fue un mes aproximadamente, se reemplazó al macho en estos tratamientos, logrando repetir el evento y finalizar con éxito el periodo de lactancia con 13 crías vivas. Adicionalmente, se criaron 48 hembras y 12 machos (tratamiento 2), divididas en doce tratamientos, cada una con cuatro hembras y un macho y cada macho tuvo 4 apareamientos en promedio.

La cría de los animales del tratamiento 1 (poligámico), se realizó en una jaula de cemento de 0,3 m² con puerta frontal de malla con cama de viruta. Para la crianza de los tratamientos 2 (poligámico), 3 y 4 (monogámicos) se usó contenedores de plástico de 0,2 m² con cama de viruta y techo de malla. La preñez se identificó mediante la observación del crecimiento lateral del abdomen y después del diagnóstico las hembras fueron separadas en un contenedor plástico individual. Luego del parto, las madres y sus crías fueron trasladados a otro criadero de plástico con un área de 0,2 m² y una malla metálica en la parte superior.

La alimentación consistió en 25 g entre cebada, maíz, alimento balanceado para aves, animal/día y agua a voluntad con bebederos de plástico y chupón. Para el periodo de *flushing* del tratamiento 3 - 4, se adiciono 5 g / día de alimento especializado de animales de laboratorio, durante el tiempo de descanso (un mes aproximadamente). Para la bioseguridad se usó pediluvio, cambio de ropa, mandil, botas, lavado de manos, desinfección, control de ingreso de personal y animales. Además, se utilizó viruta desinfectada para el piso y desparasitaciones periódicas. También se instalaron extractores de aire de 10 m³ para mejorar la

ventilación y aireación, disminuyendo los niveles de amoníaco en el bioterio.

Los parámetros evaluados fueron: Tasa de fertilidad (%), para ello se calculó el número de hembras con crías nacidas, por cien, entre el número de hembras en reproducción. Tamaño de Camada al Nacimiento (TCN), es el número de animales nacidos por cada hembra. Tamaño de Camada al Destete (TCD), es el número de crías vivas al día 21 que se separaron de la madre. Tasa de Supervivencia (%), se calculó el tamaño de camada al destete, por cien, dividido entre el tamaño de camada al nacimiento. Tasa de Destete (%), es el número de hembras con crías hasta el destete, por cien, dividido entre el número de hembras en reproducción. Peso de la camada (g), se obtuvo al sumar el peso del total de los animales al destete mediante balanza analítica. Peso promedio de crías (g), se dividió el peso de camada entre el tamaño de camada al destete.

Resultados

Los caracteres reproductivos y habilidades logrados en el bioterio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo en ratas Holtzman con 76 reproducciones de cuatro hembras y un macho (tratamiento 1) fueron 117 crías nacidas y 110 al destete. Logrando un TCN de 4 crías/reproducción y un TCD de 3,8 crías/reproducción con un 94,02% de supervivencia (cuadro 1 y figura 1).

Mediante el sistema de reproducción controlada con 48 reproducciones de cuatro hembras y un macho (tratamiento 2), se obtuvo 193 crías nacidas y 182 crías al destete. Logrando un TCN de 6,7 crías/reproducción y un TCD de 6,3 crías/reproducción (figura 1) con un 94,3% de supervivencia, alcanzando un peso promedio 23,05 ± 1 g por y 145 g por camada (cuadro 1 y figura 2).

Tratamiento 3: Mediante el sistema de apareamiento controlado monogámico. En la primera gestación, con un desarrollo normal se logró una camada de 13 crías con una supervivencia del 100%, un TCD de 13 crías al día 21, de estos, cuatro ejemplares fueron colocados con una madre nodriza para incrementar las posibilidades de supervivencia, obteniéndose un mejor peso al destete, 371 g peso de camada y un peso promedio de 28,75 ± 1,46 g por cría (cuadro 1, figura 1 y figura 2).

Tratamiento 4: Mediante el sistema monogámico, se obtuvo una segunda gestación en el mismo espécimen (tratamiento 3), logrando un TCN de 13 crías, en el destete se obtuvo una supervivencia del 100% con una lactancia completa de 21 días con el total de las crías,

un TCD de 13 crías con un peso de camada de 385 g al destete y un peso promedio 29,5 ± 0,34 g por cría (cuadro 1 y figura 2).

Cuadro 1. Indicadores reproductivos de ratas Holtzman del bioterio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo.

Indicadores	T1 (n=76)	T2 (n=48)	T3 (n=1)	T4 (n=1)
Hembras gestantes	37	41	1	1
Hembras al finalizar lactación	24	29	1	1
Tasa de fertilidad (%)	49%	85%	100%	100%
Tasa de destete (%)	32%	60%	100%	100%
TCN*	4,0	6,7	13	13
TCD**	3,8	6,3	13	13
Supervivencia (%)	94,02%	94,30%	100%	100%
Peso/cría (g)	-	23,05 ± 1	28,75 ± 1,46	29,5 ± 0,34
Peso/camada (g)	-	145	371	385

*Tamaño de Camada al Nacimiento

** Tamaño de Camada al Destete

T1: junio – julio 2017, T2: julio – agosto 2018, T3 registrado en mayo – junio 2018 y T4 registrado en julio – agosto 2018.

Figura 1. Tamaño de camada nacida y destetada en ratas Holtzman. Comparaciones con el registro inicial, segundo registro, tratamiento 1 y 2 del bioterio en estudio.

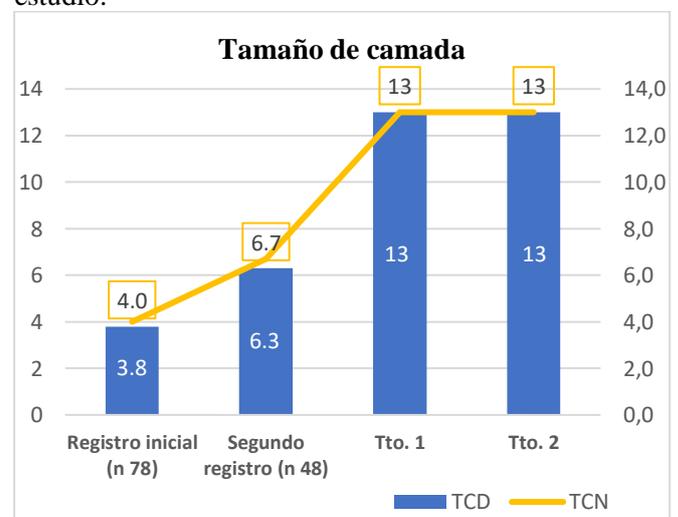
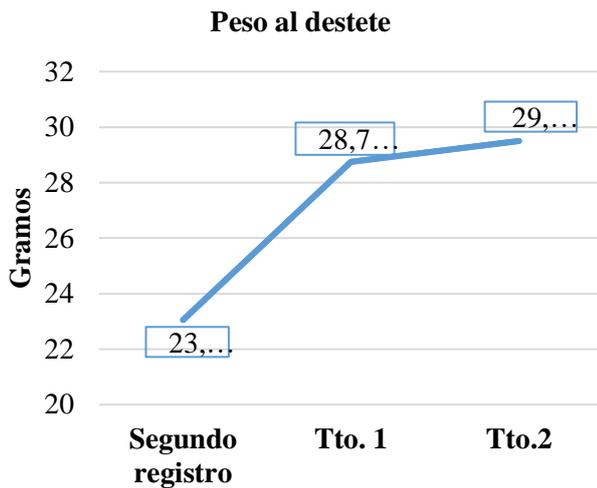


Figura 2. Peso por cría (g) de ratas Holtzman a los 21 días de edad.



Discusión

Las dos reproducciones de los tratamientos 3 y 4 de ratas Holtzman mostraron un tamaño de camada al nacimiento de 13 crías y un TCD de 13 crías por reproducción en ambos casos, con supervivencia del 100%, los cuales se asemejan a los resultados del trabajo de Kransler et al (2009) en donde las ratas Holtzman gestantes (n=13) fueron analizadas en el día 20 de gestación con una media de 14 sitios de implantación de las crías para alcanzar TCN con 14 crías viables por reproducción con una supervivencia del 100%; en el tratamiento de 7 días postnatal las ratas (n=13) con 14,4 sitios de implantación de las crías alcanzaron 13,7 crías viables por reproducción con una supervivencia del 96,7%, lo cual tiene mayores resultados a los encontrados por Cuellar et al., (2019) en el que de 22 ratas Wistar preñadas, por cada una hubo 2 embriones reabsorbidos en promedio. A pesar de que nuestros resultados son cercanos a los del autor mencionado, estamos por debajo de sus índices, esto posiblemente al verse influenciado por la consanguineidad descrito por Benavides y Guénet (2003), quienes indican que durante el desarrollo de una línea consanguínea nos podemos encontrar con el fenómeno denominado depresión endogámica, en el cual se observa una baja en la fertilidad y una menor adaptación al medio, obstáculos que llevan a veces a la pérdida de la línea. Por otro lado, García-Sustegui et al., (2017) obtuvo menores resultados que los nuestros en un estudio realizado en dos cepas de ratas del bioterio de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla donde logró con una cepa de rata mutante alopecica hipotímica un tamaño de camada de $7,0 \pm 0,6$ (n=13) frente a $11,9 \pm 0,4$ (n=17) crías de una cepa Long Evans (CII-ZV).

Se obtuvo mejores resultados con la utilización de contenedores plásticos de 2000 cm² por camada y un

aporte alimenticio no especializado, logrando así un mayor número de crías nacidas y destetadas por pareja reproductora, apenas con un infanticidio de 1.8 cría, lo que no se logra con jaulas de 922,6 cm² que comúnmente pueden ser aceptables para el alojamiento continuo de ratas en parejas reproductoras monógamas, aunque esto se consideraría hacinamiento según las recomendaciones de espacio que es 1058.1 cm², descrito en por Allen et al., (2016). Esto se contradice en cierta parte a los resultados encontrados por Cárdenas-Villalvazo et al., (2010) quienes alojaron 30 ratas macho de 21 días de edad durante 40 días en tres condiciones distintas y obtuvieron un mayor número de cruces en grupos aislados individualmente y en un grupo de hacinamiento (50,4cm²/rata) en relación con el grupo control recomendado para el manejo del bioterio, lo cual según estos autores indica un estado mayor de activación general.

El peso promedio de las crías al día 21 fue bajo, apenas $23,05 \pm 1$ g, en el sistema de parejas poligámicas con extracción del macho y reubicación de las hembras en jaulas/contenedores individuales comparado con el estudio de Allen et al., (2013) quien obtuvo $47,6 \pm 1,2$ g con parejas monógamas alojadas continuamente y $41,4 \pm 1,7$ g con parejas monógamas agrupadas de forma intermitente con la extracción de la rata macho después del parto.

Benavides y Guénet (2003), mencionan que los encargados de animalarios seleccionan animales teniendo en cuenta el comportamiento reproductivo, tomando en cuenta a estos autores obtuvimos un alto beneficio, ya que se encontró hembras con habilidades maternas con una adecuada construcción de nido, bajo porcentaje de infanticidio y con camadas superiores a ± 10 crías con lo cual se logró un alto tamaño de camada (TCN 13 y TCD 13 crías). Además, se cumplió un estricto manejo con personal calificado y cumpliendo con los protocolos del bioterio para obtener buenos resultados, lo cual es muy importante según Mourelle, Herrero y Ricca (2013), quienes mencionan que para obtener buenos resultados los animales experimentales deben ser tratados de manera humanitaria y este trato inicia por la capacitación, el compromiso y responsabilidad del personal que lo manipula, de modo que los animales se sientan cómodos y sean dóciles. Debido a que los animales forman lazos emocionales y reconocen a las personas que usualmente los manejan y al estar en constantes cambios: cambios de jaula, movimientos de sala en sala, entrada de personal, procedimientos de aseo, supervisión del estado de salud, etc., alteran su estado

de homeostasis, entonces es necesario cumplir estrictamente con los protocolos establecidos por el bioterio y normas de bienestar animal nacionales e internacionales, dentro de los cuales se incluye el uso constante y correcto de los equipos de protección personal para evitar posibles contagios cruzados.

Conclusiones

La creación de un núcleo reproductor en ratas (*Rattus norvegicus* cepa Holtzman), con caracteres fijados, permite al bioterio universitario duplicar sus indicadores reproductivos para incrementar e incentivar los trabajos de investigación. El manejo reproductivo de un sistema de apareamiento monogámico con descansos elevados incrementa el tamaño de camada/reproducción y el peso de camada al destete.

El presente estudio permite dar a conocer las condiciones de manejo y como la aplicación de tecnologías enfocadas al bienestar animal, manejo y condiciones ambientales, pueden presentar un producto estandarizado, con características fisiológicas que permitan expresar al máximo el material genético de los animales de acuerdo con la condición climática, ubicación y tipo de alimentación. Los trabajos de investigación deben desarrollarse en función de la optimización de recursos, reciclaje o reducción en el número de especímenes. Finalmente, toda actividad de mejoramiento en el bioterio va a permitir un crecimiento de la investigación en farmacología, fisiología, nutrición entre otras.

Referencias bibliográficas

- Allen K, Dwinell MR, Zappa A, Temple A, Thulin J. 2013. Comparison of 2 rat breeding schemes using conventional caging. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science: JAALAS*, 52(2): 142–145.
- Allen KP, Dwinell MR, Zappa AM, Michaels AM, Murray KM, Thulin JD. 2016. Rat Breeding Parameters According to Floor Space Available in Cage. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 55(1): 21–24.
- Benavides F, Guénet J. 2003. Sistemática de los roedores utilizados en el laboratorio. *Manual de Genética de Roedores de Laboratorio: Principios Básicos y Aplicaciones*, 312.
- Calderón, J. (2020). Influencia de la viabilidad, demanda y normatividad en el Diseño y localización de un Bioterio para *Rattus rattus* "rata" y *Mus musculus* "ratón". *Revista ciencia y tecnología*, 16(2), <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/PGM/article/view/2888>
- Cardozo C, Mrad A. 2008. *Ética en investigación con animales: Una actitud responsable y respetuosa del investigador con rigor y calidad científica*. *Rev. Latinoam. Bioét*, 8(2): 46–71.
- Cárdenas–Villalvazo A, López–Espinoza A, Martínez A, Franco K, Díaz F, Aguilera V, Valdez E. 2010. Consumo de alimento, crecimiento y ansiedad, tras estrés por hacinamiento o aislamiento de ratas. *Rev. Mex. Anál. Conducta*, 36(2).
- Cuellar L, Zafra D, Moreno S, Rosero D, Martínez C, Moreno F. 2019. Determinación del tiempo de gestación y desarrollo embrionario en rata Wistar (*Rattus norvegicus*) de un bioterio de Cali (Colombia). *Salutem Scientia Spiritus*, 5(1): 14-20.
- Freitas H, Pacheco A, Pereira A, Santos J, Mendonça N, Gama D, ... Oliveira W. 2020. Bem-estar e suas perspectivas na produção animal. *Pubvet*, 14(1): 1–5.
- García-Sustegui W, Ochoa-Ramos A, Handal-Silva A, Morán-Perales J. 2017. Parámetros reproductivos básicos en ratas hembras adultas (*Rattus norvegicus*) de una cepa mutante alopécica hipotímica mantenida en condiciones convencionales de bioterio. *Revista de Ciencias de la Salud*, 4(11): 1-10. https://www.ecorfan.org/bolivia/researchjournals/Ciencias_de_la_Salud/vol4num11/Revista_Ciencias_de_la_Salud_V4_N11_1.pdf
- Herrera G, Guzman H. 2018. El bioterio y su importancia en la investigación científica. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. México.
- Kransler K, McGarrigle B, Swartz D, Olson J. 2009. Lung Development in the Holtzman Rat is Adversely Affected by Gestational Exposure to 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-Dioxin. *Toxicological Sciences*, 107(2): 498–511. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfn235>
- Mourelle AC, Herrero E, Ricca M. 2013. Recomendaciones para manipulación y sujeción de ratas y ratones de laboratorio. *Spei Domus*, 9(19): 39-47. <https://doi.org/10.16925/sp.v9i19.708>
- Rodríguez E. 2007. Ética de la investigación en modelos animales de enfermedades humanas. *Acta bioeth.* v.13 n.1. https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-569X2007000100004
- Romero-Fernandez W, Batista-Castro Z, De Lucca M,

- Ruano A, García-Barceló M, Rivera-Cervantes M, García-Rodríguez J, Sánchez-Mateos S. 2016. El 1, 2, 3 de la experimentación con animales de laboratorio. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* 33(2): 288–299. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342016000200015
- Santos MJ, Valenzuela F, Michaud P, Telez R, Nuñez s, Lira E, Sotomayor MA, Winkler MI, Boser ME, Mendez G. (2009). Aspectos bioéticos de la experimentación animal. 4to Taller de Bioética: aspectos bioéticos de experimentación animal (pp1-137). Santiago, Chile: Comisión nacional de investigación científica y tecnología.
- UAEH. 2017. Animales de experimentación. https://www.uaeh.edu.mx/bioterio/animales_expe.htm
- Zuluaga A, Salazar B, Galvis W, Loaiza S, Agudelo M, Vesga O. 2003. Fundación del primer bioterio MPF funcional de Colombia. *IATREIA* 16(2). http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-07932003000200001
- Zuleta, H. 2015. Administrador de Colonia Bioterio. Tesis de pregrado. Universidad de Guayaquil. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/8308>