

Organización y mantenimiento de un estabulario de ratas para la investigación en psicología (I)

*Ma Assumpció Martí y
Núria Ferré**

Universidad Autónoma de Barcelona

1. INTRODUCCION

En los centros donde se realiza investigación psicológica con animales es aconsejable disponer de un estabulario propio para poder ejercer un mayor control de las condiciones en las que viven los animales. Este control ha de ser estricto y riguroso ya que cualquier manipulación o condiciones de cría inadecuadas pueden distorsionar significativamente los resultados de la investigación y, en consecuencia, el investigador no podrá estar seguro de la fiabilidad de sus resultados y tendrá dificultades para repetir sus propios experimentos o los de otros. Sólo podremos obtener resultados adecuados y reproducibles cuando se haya trabajado bajo condiciones controladas e iguales.

Estos estabularios han de contemplar tanto las necesidades de cría y reproducción, para asegurar un tamaño de la población suficiente para las investigaciones que han de llevarse a cabo, como las de mantenimiento de los animales en fase de experimentación y de los que están a la espera de ser usados para tal fin. Este es, pues, un sistema llamado «mixto».

Disponer de un servicio de este tipo supone un esfuerzo notable, por esto hay quien opta por adquirir los animales en centros especializados (animalarios industriales). Sin embargo, esta es una solución cara y peligrosa. Animales aparentemente sanos pueden presentar anomalías conductuales que son síntomas, por ejemplo, de una endogamia producida por un descontrol en los apareamientos de los animales reproductores. Aun en el caso de que el centro especializado llevara a cabo este control, unas malas condiciones de traslado, un medio de transporte inadecuado o, simplemente, el estrés que padecen los animales por el solo hecho de un desplazamiento largo, pueden repercutir en sus comportamientos.

Desde el año 1972 en el que se creó el Laboratorio de conducta, pusimos en marcha un estabulario propio, con el fin de disponer, en todo momento, de animales experimentales (ratas) para la investigación y asegurar unas óptimas condiciones fisiológicas y psicológicas en ellos.

La mayor parte del contenido de este trabajo es fruto de la experiencia que hemos adquirido durante estos años en atender las condiciones higiénicas, de reproducción y de organización global de nuestro estabulario. A

* Dirección de los autores: Departamento de Psicología Experimental y Psiofisiología. Universidad Autónoma de Barcelona.

lo largo de estos años no se nos han presentado casos anómalos (infecciones epidémicas, enfermedades endémicas,...) que serían consecuencia de un mal funcionamiento del estabulario, siendo la fiabilidad de nuestros resultados aceptable y la variabilidad entre sujetos menor que la que se observa en muchos trabajos publicados en revistas internacionales.

2. INFRAESTRUCTURA

El estabulario es el espacio físico donde se mantienen, controlan y reproducen los animales destinados a trabajos de investigación. Este espacio ha de cumplir unas condiciones mínimas para garantizar eficacia, higiene y economía en su funcionamiento. Sin embargo si no hay un cuidado óptimo de los animales, un control genético riguroso de los apareamientos de los reproductores y un control patológico, aquellas condiciones físicas por sí solas no tienen ninguna utilidad.

2.1 Los espacios y su distribución. Características

— Siempre que sea posible el estabulario ha de estar ubicado en un espacio separado de las dependencias de experimentación.

— En los estabularios que atienden tanto a la producción de animales como al mantenimiento de animales de experimentación conviene que los animales de cría se mantengan en una dependencia separada del resto de animales de experimentación.

Si el tamaño de la población que hay que mantener es muy grande es preferible distribuir ésta en pequeñas habitaciones. De esta forma cualquier tipo de contaminación afectará sólo a un pequeño grupo de animales y no a toda la población.

— Es preciso disponer de un espacio destinado a la limpieza y desinfección del material (jaulas, biberones, etc.).

— El material limpio y desinfectado (listo para ser usado) debe dejarse en un espacio que quede reservado y en el que no entre más que el personal que cuida de la higiene del estabulario.

— Idealmente conviene disponer de otra habitación para suministrar comida y agua a los animales, para pesar a éstos y para hacer el tratamiento que requiera la investigación (por ejemplo, suministrar fármacos).

— Evidentemente es necesario tener un espacio (que puede ser de dimensiones reducidas) donde se pueda almacenar la viruta y los sacos de comida de reserva.

— Finalmente, es recomendable que exista un servicio de limpieza para el personal (lavabo, ducha, etc.).

Todos estos espacios han de estar distribuidos de tal manera que sólo permitan ir de la zona limpia a la sucia y no al revés (para entrar en la zona donde hay animales o el material desinfectado, hay que pasar, previamente, por la zona de limpieza y desinfección).

En cuanto a las características del material de construcción hay que tener en cuenta que:

— sea impermeable y resistente a detergentes y desinfectantes.

— las pinturas han de ser resistentes a los disolventes químicos, y mezcladas con productos antihongos (ya que los hongos pueden ser causa de ciertas patologías).

— es preferible evitar ángulos, uniendo una pared con otra y con el suelo de tal manera que las uniones sean cóncavas para facilitar la limpieza. Se asegura así una mejor desinfección.

2.2 Material

Describiremos en este apartado las características del material propio de un estabulario de ratas, a saber: jaulas, viruta, biberones y estanterías.

La *jaula* es el habitáculo o lugar donde se alojan los animales. Ha de permitir al animal moverse y comportarse con normalidad. Mantener los animales en áreas excesivamente pequeñas, donde no se puedan mover adecuadamente, es totalmente desaconsejable. La elevada densidad de población (excesivo número de ratas por jaula, así como exceso de animales en un espacio reducido) provoca estrés permanente. La movilidad es una norma de higiene extremadamente importante.

Generalmente las jaulas que se usan para trabajar con ratas son de dos tamaños: 274×274×150 mm. (jaulas individuales) y 524×274×150 mm. (colectivas). El número óptimo de ratas adultas que debe contener una jaula colectiva es de 4 a 5, o bien los padres con su cría (hasta el momento del destete). Hay que tener en cuenta que los animales que viven juntos en una jaula están menos estresados que los que viven solos. Al mantener el animal solo en su jaula, se provoca un estrés fuerte sobre todo en ratones (Baker, Lindsey y Weisbroth, 1979; Fortemeyer, 1979) pero también en ratas se observa irritabilidad y agresividad después de un período largo de aislamiento (Valzelli, 1971).

La «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals» (Moreland, 1978) sugiere la siguiente relación entre peso de la rata y área necesaria:

Peso rata	Area por rata
Hasta 100 gr.	110 cm ²
De 100 a 200 gr.	148 cm ²
De 200 a 300 gr.	187 cm ²
Más de 300 gr.	258 cm ²

El peso medio del grupo alojado en una jaula comunitaria varía con el nombre de individuos. Sin embargo, se encuentran a menudo diferencias significativas en los pesos de los animales mantenidos en grupos.

En los trabajos que requieran emancipar las ratas y alojarlas individualmente, hay que tener presente que cuando viven agrupadas, las dominantes comen y beben más y, por consiguiente, convendrá dejar transcurrir unos siete días antes de poner en marcha la investigación para que se estabilicen los pesos. Durante este período las ratas dominantes generalmente disminuyen o no alteran su peso, y las más débiles lo aumentan.

En cuanto al tipo de material, la jaula puede ser de plástico o metálica. Las metálicas (de acero inoxidable) conducen mejor el calor que las de plástico (makrolon o propileno), en consecuencia, la temperatura en el interior de la jaula será aproximadamente la de la habitación en el caso de que la jaula sea metálica y de 6 a 8 °C superior a la del estabulario si es de material plástico (Fortmeyer, 1979). El contenido en CO₂, también es superior en el interior de las jaulas de plástico.

En la mayoría de trabajos de investigación es preferible usar jaulas de plástico y no metálicas a pesar de los inconvenientes citados, ya que aquellas además de ser más económicas, no tienen juntas (con lo que se facilita la limpieza), duran más y son químicamente inertes. Las jaulas transparentes (de mackrolon) tienen la ventaja de que facilitan la observación de los sujetos, pero no dan la seguridad de las opacas (de propileno).

Algunos tipos de investigaciones pueden requerir el uso de rejillas metálicas en el suelo de la jaula para evitar el contacto con las excreciones de los mismos animales. En aquellos casos en que sea preferible no manipular los animales en ningún momento, ni siquiera para limpiar las jaulas y cambiar la viruta, es preferible usar jaulas (ya sean de plástico o metálicas) con suelo de rejilla metálica ya que ésta permitirá el paso de los excrementos que serán recogidos por una plataforma independiente de la jaula. Otra ventaja de estas jaulas es que en su interior hay una mayor ventilación y, por tanto, unos niveles inferiores de amoníaco. Sin embargo, es cierto también que permiten un trasvase mayor de infecciones entre las jaulas. En todo caso, según Baker *et al.* (1979) pueden ser apropiadas para ratas jóvenes o adultas, pero nunca para las más pequeñas.

Las jaulas, sean del tipo que sean, tienen una cubierta (tapadera) articulada, de acero inoxidable, a la cual se acopla el biberón de agua y la comida.

Las *virutas* que contienen las jaulas absorben la orina y la defecación y, además, evitan el exceso de temperatura en el interior de éstas. Hay que cuidar que las virutas estén purificadas, ya que de otro modo, los productos tóxicos de la madera y los agentes patógenos que puede contener, pueden ocasionar graves consecuencias.

Los *biberones* o botellas con las que se suministra el agua a los animales, deben ser de cristal para posibilitar una limpieza a fondo y una buena desinfección de los mismos. Las tetinas son de goma y el tubo que las atraviesa de acero inoxidable, con un pequeño canal en su interior que permite la salida del agua hacia el exterior. Las botellas suelen ser de dos tamaños: con capacidad de 250 c.c., o de 500 c.c. Las primeras son suficientes para las jaulas individuales, las otras son adecuadas para las jaulas grandes en las que conviven varios animales.

Las *estanterías* donde se colocan las jaulas han de tener un diseño sencillo para facilitar la limpieza. Pueden montarse acopladas a la pared, pero es mucho más útil el llamado «tren de jaulas». En este caso las jaulas se acoplan a través de las vías de que consta el tren. Este suele tener unas pequeñas ruedas que permiten desplazarlo cuando se realiza la limpieza del estabulario. Cuando los animales van destinados a estudios de comportamiento es aconsejable no mover las estanterías para no estresar a los animales; en consecuencia en este caso no se precisa un tren con posibilidades de desplazamiento. En general conviene situar el tren de jaulas de tal manera que permita la atención de los animales por ambos lados.

3. ORGANIZACION

La persona que cuida de la buena marcha del estabulario y que es responsable de la organización global de éste dispondrá de:

a) un *registro del material que entra*, en el que constará el número del albarán de entrega, el número de la orden de pago por parte de la institución, precio, fecha de recepción del material, vendedor, condiciones del material, observaciones, etc.

b) un inventario para ejercer un *control permanente de los animales, comida, gastos, ...* y que permitirá a su vez, calcular en todo momento los costos diarios, semanales o anuales.

c) un *control de los pedidos de animales* que requiere el personal investigador (ver Anexo 1): conviene que éstos formulen sus demandas con antelación suficiente para permitir hacer provisiones adecuadas y, si es preciso, aumentar el número de parejas de reproductores para disponer momentáneamente y de forma transitoria, de una mayor población de animales (ver 3.1) siempre que las condiciones del estabulario (espacio, personal, jaulas) lo permitan.

d) un *registro de animales* (de todos los que hay en las diferentes dependencias) específico para cada caso:

— para los animales de mantenimiento: 1) tarjeta de identificación adjuntada a la jaula en la que se hará constar los datos que se indican a continuación:

jaula
progenitores
fecha nacimiento
sexo
nº de animales
cepa
destino/destinatario

2) registro permanente (que permanece en la oficina de control) en el que se hará constar los datos indicados en el Anexo 2. Cada una de estas fichas corresponderá a una pareja de reproductores.

— para los animales de cría (reproductores con sus respectivas crías): 1) tarjeta de identificación adjuntada a la jaula en la que se hará constar el número de pareja y la fecha de apareamiento. 2) registro permanente: ya que pueden registrarse conjuntamente los padres (reproductores) y los animales de mantenimiento, el control se hará igualmente mediante los datos indicados en el Anexo 2. Conviene tener además un control genealógico para evitar (siempre que el trabajo de investigación no requiera lo contrario) los cruzamientos consanguíneos. En la columna donde se especifica el destinatario (Anexo 2) se anotarán los animales que van destinados a la reproducción.

El ordenador puede ser un instrumento muy eficaz (ahorra tiempo, asegura mayor control,...) para llevar a cabo este registro permanente de los animales.

— para los animales de experimentación: cuando se han separado en grupos o individualmente, según convenga, hay que añadir a los datos que estos animales tenían en la tarjeta de la jaula de mantenimiento, el tipo de medicación, privación de comida o bebida o cualquier otra condición que precise ser anotada. Es útil además, anotar el nombre del investigador que hace uso de los animales, en cada jaula.

3.1 Sistemas de apareamiento

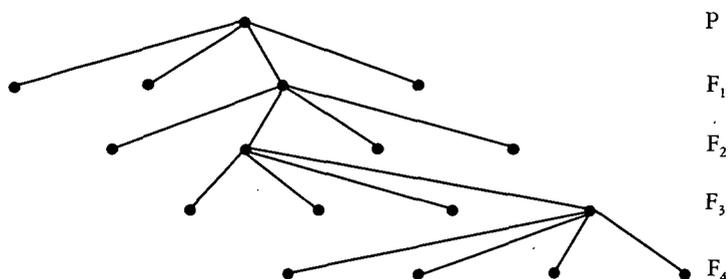
Para mantener un stock constante de animales en el estabulario se requiere una reproducción continuada. ¿Cómo elegir los animales jóvenes para aparearlos y obtener descendencia?, lógicamente dependerá del tipo de animales que nos interesa obtener. Para disponer de una población con gran variabilidad genética el sistema de apareamiento y de selección de los

reproductores será distinto del que se requerirá para obtener una población con la mínima variabilidad genética.

Sistemas de apareamiento para reducir o eliminar la variabilidad genética

Estos sistemas se aplican cuando interesa obtener líneas puras (homocigóticas para uno o más loci) que permitirán hacer comparaciones entre ellas, o cuando interesa eliminar la variabilidad genética para poder atribuir toda la variabilidad que se observa para una determinada característica al factor medio ambiente.

Estos sistemas se basan en cruzar animales que tengan uno o más antepasados comunes. Cuanto más próximo es el grado de parentesco entre aquellos, más rápidamente conseguiremos eliminar la variabilidad genética. Un modo de proceder es el sistema de la línea única (Baker, 1979); según este método el núcleo colonial puede obtenerse mediante apareamientos monógamos entre la descendencia de una sola pareja, tal como indicamos en el esquema siguiente:



En cada generación los nuevos progenitores de la colonia núcleo han de ser animales procedentes de una sola pareja monógama. De esta manera el pedigree se mantiene vía sistema de línea única.

La primera consecuencia de la consanguinidad es la reducción del número de individuos heterocigóticos para algún par de alelos y, por tanto, se aumenta el número de sujetos homocigóticos para uno u otro de los alelos de un par. El grado de consanguinidad (coeficiente de consanguinidad) varía del 0 por 100 al 100 por 100. El aumento más rápido de este coeficiente se obtiene mediante los apareamientos entre hermanos; en consecuencia, cuanto menor sea el grado de parentesco entre los miembros que se aparean más lentamente se llega a la homocigosis.

Como resultado de estos métodos que implican consanguinidad se observan dos hechos: 1) la depresión endogámica, que comporta una mayor susceptibilidad a la enfermedad, aparición de anomalías con mayor frecuencia, disminución de la capacidad reproductiva, escasa vitalidad, incluso —según Fortmeyer, 1979— mayor respuesta a las influencias externas. Todo ello ¿por qué? pues porque al aumentar el grado de homocigosis, los genes recesivos anormales (la mayoría de genes deletéreos son recesivos) se manifiestan con más frecuencia que si los cruzamientos hubiesen sido hechos al azar o entre animales no emparentados, ya que en esos casos

estos genes se encuentran en estado heterocigótico y, por tanto, no se manifiestan. 2) la ya citada disminución o eliminación de la variabilidad genética, que en definitiva es lo que se pretende con los cruzamientos consanguíneos.

De hecho, continuamente puede encontrarse variación genética, aún con los cruzamientos consanguíneos, a causa de la mutación. Es preciso, pues, mantener la línea consanguínea mediante aquellos cruzamientos para eliminar todas las variaciones posibles.

Para evitar el fenómeno de depresión endogámica antes citado, se utilizan generalmente híbridos de dos líneas consanguíneas ya que estos presentan todas las propiedades positivas de las líneas puras (homocigóticas) pero no las desventajas de éstas (Fortmeyer, 1979).

Sistemas de apareamiento que mantienen la variabilidad genética de la población

Los principales métodos son el sistema de apareamientos al azar y el sistema de apareamientos para conseguir la mínima consanguinidad.

a) *apareamientos al azar*: En este caso el grado de consanguinidad depende del número de parejas de progenitores de los cuales se dispone para mantener el stock de animales. Así pues, para mantener un grado mínimo de consanguinidad habrá que disponer de un gran número de ellos, el mayor número posible en cada generación, pero siempre proporcional al tamaño de la población que se quiere mantener. Este método es sólo aconsejable cuando se dispone de más de 100 reproductores en cada generación. Eggenberger (1973) demostró que el tamaño de la población y el método usado para seleccionar a los reproductores son decisivos para mantener la estructura genética de las colonias mantenidas mediante apareamientos al azar. Los reproductores, siguiendo el sistema al azar, se escogerán de entre la totalidad de animales jóvenes de la última generación y los apareamientos se harán sin tener en cuenta sus antepasados, es decir, sin controlar si existe entre los miembros de cada pareja algún grado de parentesco. Ello significa que algunas familias contribuirán genéticamente más que otras en la formación de la generación siguiente.

La proporción teórica de consanguinidad es, según Falconer (1962) aproximadamente y por generación, $1/2 N$ (donde N es el número de progenitores) cuando el número de reproductores masculinos es igual al de reproductores femeninos. En otro caso, se puede calcular la consanguinidad según la fórmula de Falconer (1962): $\%C = 100/8M + 100/8F$ (donde $M = n^{\circ}$ progenitores macho y $F = n^{\circ}$ de progenitores hembra).

Para llegar lo más lentamente posible a la consanguinidad, es preferible disponer de igual número de reproductores machos que de hembras. Sin embargo, en el sistema de apareamientos al azar frecuentemente se hacen apareamientos polígamos para aumentar la productividad. En este caso el grado de consanguinidad dependerá más del número de machos que del de hembras.

Hemos dicho que el número ideal de reproductores es de 100 o más. Pero ¿cuál es el número mínimo para no sobrepasar el coeficiente de consanguinidad tolerable? La decisión depende, en parte, del tiempo que interesa mantener el stock. Según Falconer (1962) cuando este tiempo es corto 10 parejas son suficientes, mientras que éstas no serán suficientes si se precisa mantener el stock durante unos años.

b) *apareamientos para conseguir la mínima consanguinidad*. Este es un sistema aconsejable, sobre todo, cuando se dispone de pocos reproductores para dar descendencia.

La mínima consanguinidad se consigue cuando los padres de una generación contribuyen por igual en la descendencia. Para ello se precisarán dos descendientes de cada pareja para obtener la generación siguiente. De esta manera el grado de consanguinidad es la mitad del que se obtiene en los cruzamientos al azar, con el mismo número de padres (Falconer, 1962). En caso de que una de las parejas fuera estéril o tuviera poca descendencia hay que encontrar sustitutos para mantener constante el número de progenitores. Estos sustitutos se obtendrán de las parejas más fértiles, pero sólo se cogerá uno por pareja. En la práctica pues, es difícil que cada pareja contribuya exactamente igual en la descendencia. A menudo nos encontraremos con que una pareja no contribuye en absoluto a dar los futuros padres, otras contribuirán con tres hijos y, la mayoría, con dos.

Con este método evitamos los cruzamientos entre hermanos o entre primos (cruzamientos que se pueden dar perfectamente en los cruzamientos al azar y que hacen fluctuar el coeficiente de consanguinidad entre generación y generación), y obtenemos una mayor uniformidad en los coeficientes de consanguinidad de las sucesivas generaciones.

Para facilitar la elección de los descendientes de cada pareja que han de ser los reproductores que proporcionan una nueva generación, es aconsejable seguir un plan prefijado. Nosotros, dado que la capacidad de nuestro estabulario es limitada, utilizamos el siguiente:

a) Partimos de una población de 10 parejas monogámicas, que apareamos al azar. A cada una de estas parejas se le asigna la letra A, por ejemplo. Al tener 10 parejas, éstas se identificarán, además, con un número del 1 al 10 y así tendremos la pareja 1A, 2A...10A.

b) Alojaremos cada pareja, debidamente identificada mediante tarjeta adjuntada a la jaula (ver punto 3) en el estabulario de cría. Las jaulas serán las de tamaño mayor.

c) A partir de las 3 semanas después del apareamiento, se realizará un control diario de los posibles nacimientos.

d) En el caso de que una pareja tenga más de 10 descendientes en un sólo parto, se eliminarán tantos descendientes como número sobrepasen de 10, para asegurar una buena alimentación de los restantes. Se puede intentar diferenciar sexos en los primeros días después del nacimiento, para poder eliminar únicamente crías del sexo con menor demanda. Exceptuando este caso, no hay que tocar las crías hasta que tengan pelo, ya que la madre podría rechazarlas.

e) Las crías se destetarán a los 21 días y se identificará el sexo de cada una de ellas.

f) Los animales de la misma camada y mismo sexo convivirán juntos hasta el momento de entrar en fase experimental o en fase de reproducción. Si, excepcionalmente, en una misma camada hay más de 5 machos o más de 5 hembras, repartiremos los animales de tal manera que cada jaula no contenga más de 5.

g) Los padres se separarán en el momento en que sean destetadas sus crías, excepto en el caso que se requiera aumentar la población.

h) En el caso que el número de descendientes obtenidos con las 10 parejas de reproductores no sea suficiente para atender a la totalidad de las demandas de animales experimentales, podemos recurrir, temporalmente, a aumentar la producción, ya sea obteniendo más de un parto por pareja (dejando el macho reproductor con su pareja), ya aumentando el número

de parejas reproductoras, sacrificando en este caso parte de los animales destinados en principio a experimentación. En caso extremo, incluso se puede romper el principio de pareja monogámica y cruzar un mismo macho con más de una hembra. Los animales nacidos de estos cruzamientos no habituales no serán usados para obtener las futuras generaciones.

i) Cuando los descendientes son sexualmente maduros (aproximadamente a los dos meses y medio) se separan, al azar, un macho y una hembra descendientes de aquellas 10 parejas iniciales. El resto de animales, unos 30-40 machos y unas 40-50 hembras, estará a disposición del personal investigador.

j) Aquellos 10 machos y 10 hembras que han de dar la generación siguiente se aparearán según el método siguiente, para evitar cruzamientos entre parientes (Falconer, 1962) estas nuevas parejas tomarán ahora la letra B:

Macho/hembra	Macho/hembra
1B = 1A × 2A	6B = 2A × 1A
2B = 3A × 4A	7B = 4A × 3A
3B = 5A × 6A	8B = 6A × 5A
4B = 7A × 8A	9B = 8A × 7A
5B = 9A × 10A	10A = 10A × 9A

Para la siguiente generación, las parejas tendrán la letra de identificación C, y así sucesivamente. Obsérvese que cada pareja está duplicada, pero los animales que forman dos parejas distintas (1B y 6B, por ejemplo) no son los mismos ni lo es el sexo. Conviene que el número de parejas sea siempre múltiplo de 2, para seguir este método. De este modo la relación entre los miembros de cada pareja es siempre la misma, en una misma generación y en las generaciones sucesivas.

k) Es conveniente renovar cada año la totalidad de la población, o como mínimo el 50 por 100 de machos, eligiendo al azar los que no se renuevan, excepto en el caso que se haya observado alguna anomalía en alguno de ellos, que determinaría su eliminación.

l) Para eliminar los animales no útiles, un método rápido y eficaz, en el caso de la rata, es el de introducirla en una cámara herméticamente cerrada que contenga algodón impregnado con formol en cantidad suficiente. Otros métodos usados, quizás menos sencillos, son la guillotina, inyección de un fármaco a concentraciones o dosis mortales, etc.

4. CONDICIONES PSICOFISICAS

La influencia de los factores externos (medio ambiente) sobre los animales, hay que tenerla muy presente y controlarla porque puede cambiar las propiedades y funciones de los organismos y su susceptibilidad a la enfermedad.

Los principales factores que hay que tener en cuenta son:

4.1 Densidad de población

Una alta densidad de población además de disminuir la fertilidad de los animales (Baker, 1979) y de aumentar la mortalidad de éstos, provoca

estrés cuyas consecuencias serán comentadas en 12.1 (2ª parte de este trabajo).

Ya hemos dicho en 2.2 que las jaulas colectivas no deben contener más de 4-5 animales (ratas), pero no sólo es importante el número de animales por jaula sino el número de ellos por unidad de espacio. Baker (1979) sugiere incluso una fórmula matemática para calcular el espacio mínimo de un estabulario, en función del tamaño de las jaulas, número de estanterías, número de animales usados por semana, productividad, etc.

4.2 Temperatura

Tanto en el interior de las jaulas como en el estabulario la temperatura debe ser siempre constante y no sobrepasar el intervalo de $22^{\circ} \pm 2^{\circ}$ C. Hay que tener en cuenta que, generalmente, en el interior de las jaulas (si éstas son de plástico) la temperatura suele ser de 6 a 8° superior a la del estabulario (Fortmeyer, 1979; Baker, 1979). En consecuencia, habrá que regular el termostato de tal manera que la temperatura en el interior de las jaulas esté situada dentro del intervalo citado.

Tanto el aumento como la disminución de la temperatura más allá de estos límites, puede provocar la manifestación de enfermedades infecciosas latentes en las ratas, problemas de equilibrio hídrico por falta de agua (como consecuencia de un mayor consumo de ella), variaciones en la dosis letal de los fármacos (ésta varía con la temperatura siguiendo una temperatura en forma de U, según Rogers, 1979), variaciones en la cantidad de comida ingerida (una diferencia de 2° en la temperatura significa, en la rata, un 10 por 100 más o menos de alimentación, según Fortmeyer, 1979), variaciones en el metabolismo y variaciones en la toxicidad de ciertas drogas (ésta aumenta linealmente con la temperatura, según Rogers, 1979).

4.3. Humedad

El grado de humedad relativa debe ser, también, siempre constante: entre 40 y 60 por 100. Por fuera de estos límites, se aumenta el riesgo de enfermedad: valores por debajo del 45 por 100 conllevan, en el caso de la rata, cambios en la piel (Fortmeyer, 1979) y sequedad en la mucosa respiratoria que provocará asma y tos. Además, tanto la rata como el ratón, se vuelven estériles cuando el aire es seco.

También aquí hay que tener en cuenta que en el interior de las jaulas el grado de humedad es superior al de la habitación. La menor ventilación que se da en ellas provoca este aumento, tanto de humedad como de temperatura (Baker, 1979).

4.4 Luz

El ritmo circadiano de luz-oscuridad ha de mantenerse constante, en el número de horas de oscuridad/luz y en el momento en que se pasa de luz a oscuridad o al revés. El ciclo, en el caso de la rata, debe ser de 12 horas luz y 12 de oscuridad (Fortmeyer, 1979). Sin embargo, en los animales de cría conviene tener un ciclo de 13-14 horas de luz (Baker *et al.*, 1979). Pero no sólo la duración del ciclo de luz es importante, lo es también la intensidad de la luz y la cualidad de ésta.

Las ratas y ratones son animales de actividad nocturna (ver punto 4.7), en consecuencia hay que dar luz a intensidades bajas. Una iluminación fuerte, intensa, comportará daños irreversibles en los ojos de los animales.

El tipo de luz más adecuada es la que proporciona un fluorescente. Es preferible la luz artificial, ya que evita las variaciones de ésta con la estación del año, condiciones atmosféricas, etc. Es importante que la fuente de iluminación proporcione luz de forma difusa, no localizada; de otra forma podría darse discriminación de estímulos localizados que interferirían ulteriores formas de aprendizaje (Peterson, 1962). Conviene que la potencia de la luz no exceda los 100 W, a un metro o menos de los animales, ya que potencias superiores son aversivas para la rata (Broadhurst, 1957).

Ya que la luz ha de ser uniforme para todos los animales que aloja el estabulario, es necesario tener previstas soluciones para los animales que, al estar situados en las partes superiores del tren de jaulas, reciben mayor intensidad de luz. (La intensidad de luz varía inversamente con el cuadrado de la distancia a la fuente luminosa.) Una solución es cubrir aquellas jaulas por la parte superior, con un material poroso y translúcido.

Al nivel de la jaula se recomienda una intensidad de 807-1.345 lúmenes/m² (Moreland, 1978). Intensidades superiores o inferiores pueden causar degeneración de los fotorreceptores de los ojos de las ratas. Este efecto es más prominente a medida que la edad del animal aumenta. Lógicamente, las ratas albinas son más susceptibles a este efecto que las pigmentadas.

4.5 Ruido

El estabulario ha de estar insonorizado al máximo, para evitar que los posibles ruidos externos estresen a las ratas, provocándoles cambios fisiológicos y conductuales. El ruido reduce la actividad maternal destinada al cuidado de la cría (Cumming y Cumming, 1955).

La intensidad del ruido ambiental no deberá exceder los 85 dB. (Baker *et al.*, 1979). A 140 dB, se provoca dolor y a 160 dB daños mecánicos en el sistema auditivo de las ratas.

Procuraremos que el aparato de aire acondicionado proporcione una estimulación acústica baja y constante, evitaremos ruidos extraños (conversaciones, manipulación del material, etc.) y siempre que sea posible procuraremos que la estimulación acústica sea de baja intensidad y monótona. Pondremos especial atención al ruido que pueden producir las partes metálicas de las jaulas cuando las manipulamos. Si a pesar de las precauciones, sobresale algún tipo de ruido siempre cabe la posibilidad de enmarcarlo con ruido blanco o rosa de intensidad suficiente para que llegue a reducir el parásito. El control de esta variable es de extrema importancia para los trabajos de discriminación auditiva.

Las alarmas y los timbres, en caso de que los hubiere, han de tener una frecuencia de 450 Hz., para que sean inaudibles por parte de las ratas y audibles para los humanos. La rata albina tiene un espectro acústico desplazado hacia el extremo de los agudos respecto al de los humanos, es pues muy sensible a altas frecuencias. En el caso de la rata albina el óptimo se sitúa entre 30 y 40 KHz (Kelly y Masterton, 1977).

4.6. Aire

En todas las dependencias que alojen animales hay que instalar un acondicionador de aire que haga, como mínimos 15 cambios de aire por hora. Es preferible que en el estabulario no haya ventanas.

La presión del aire y la tensión de oxígeno e ionización del aire que varían con la presión, ejercen una influencia sobre muchos parámetros biológicos. Así, por ejemplo, la duración del sueño narcótico correlaciona fuertemente con la ionización del aire de la habitación (Fortmeyer, 1979).

Regularmente conviene realizar un control de la contaminación ambiental en todas las dependencias del estabulario.

En cuanto a la presión atmosférica, ésta será de 15 mm. de columna de agua superior a la presión atmosférica del exterior.

4.7. Ritmos circadianos

Todos los procesos biológicos dependen de los ritmos circadianos. La mayoría de las variables que pueden interesar a un investigador, muestran una variación a lo largo del día. Estas diferencias pueden llegar a ser muy importantes, por lo que si la experimentación se realiza en distintos momentos del día, las diferencias que únicamente por ello podemos encontrar en los valores de la variable, pueden llegar a superar las diferencias eventuales debidas al propio experimento en sí. En consecuencia, el efecto que esperamos encontrar puede no ser detectable, o bien podemos encontrarnos que las diferencias debidas a esos ritmos circadianos pueden llegar a ser interpretadas, erróneamente, como resultado de la investigación (Fortmeyer, 1979).

Los ritmos circadianos son influidos por los ritmos de iluminación, cambios de temperatura, hora en que se alimenta a los animales, hábitos del personal de limpieza y de los investigadores. Ya que estos horarios no se pueden supeditar a los ritmos de las ratas, conviene tener siempre horarios rutinarios (Fortmeyer, 1979).

Como ya se ha dicho, la rata es un animal nocturno, pero modifica sus ritmos según las condiciones del estabulario. En la figura 1, se muestra la distribución de la actividad de la rata medida por electroencefalografía, en

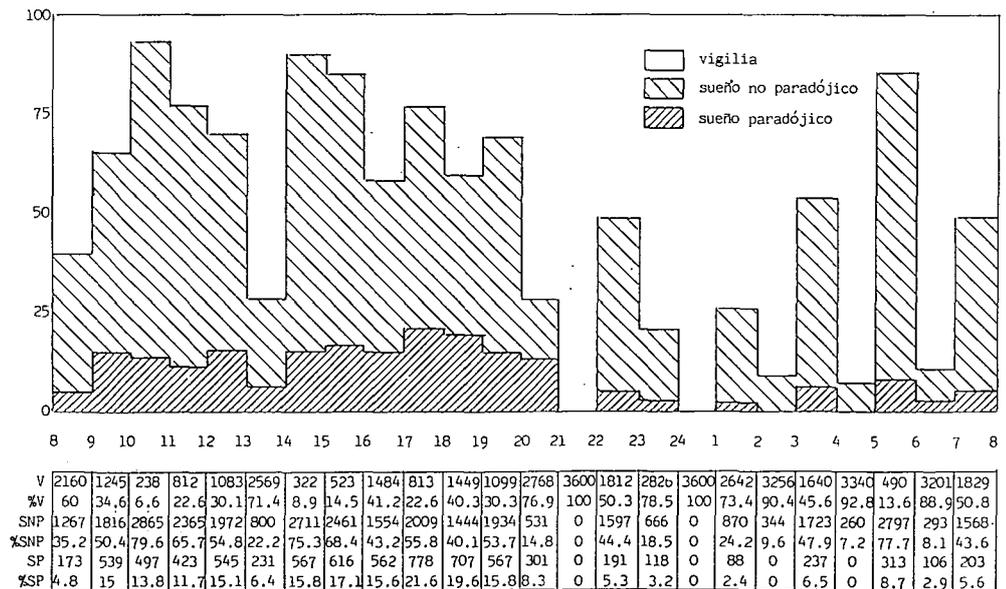


Fig. 1—Actividad de la rata medida por electroencefalografía, en el transcurso de 24 horas (según Luque y Lecerq, 1984).

el transcurso de 24 horas. En ella se puede observar que la mayor actividad, en la rata, se da por la noche, hacia las 21 h., y que las diferentes horas del día no son intercambiables para un mismo experimento. Conviene tener esto en cuenta ya que en relación a los ritmos de sueño y vigilia, las medidas de actividad, el hambre y la acción de los fármacos quedan afectados.

5. HIGIENE

La higiene en el estabulario posibilita unas condiciones confortables a los animales, evita y controla enfermedades (en especial las infecciosas) y estabiliza las funciones metabólicas.

Como ya decíamos anteriormente, hay que asegurar que el aire que respiran los animales no esté contaminado, para poder mantener los animales en buen estado de salud. Para esterilizar el aire en grandes cantidades la filtración es, probablemente, el mejor método y el más económico. El acondicionador de aire ha de ser limpiado y desinfectado, como mínimo, una vez al mes.

5.1. Control sanitario de los animales

La rata de laboratorio es portadora de microorganismos patógenos. Cambios bruscos en las condiciones físicas del estabulario o la superación de los límites de estas condiciones establecidas en el apartado 4, permiten, como ya se ha dicho, la manifestación de enfermedades provocadas por los microorganismos de los cuales las ratas son portadoras.

Estas manifestaciones pueden ser epidémicas o no serlo; en el primer caso es preciso eliminar a todos los animales y renovar totalmente la población, así como desinfectar a fondo todo el material (mediante esterilización por autoclave, si la gravedad del caso lo aconseja), y el espacio físico. En caso de enfermedad no epidémica, que es lo más frecuente, presentada por algún animal especialmente débil, solamente se requiere eliminarlo o, al menos aislarlo del resto de animales, y desinfectar la jaula y todo el material que ha estado en contacto con él.

La rata albina es propensa a las enfermedades respiratorias infecciosas, de las cuales un síntoma frecuente son las dificultades respiratorias (asma). Este síntoma aparece también cuando el nivel de amoníaco en el ambiente es alto. En consecuencia, no siempre que se observan estas dificultades en la respiración hay que matar al animal, sino sólo cuando estemos seguros de que es consecuencia de una enfermedad respiratoria, que en la mayoría de los casos tiene un desenlace fatal.

No conviene trabajar con animales que presentan estas dificultades, mientras no haya desaparecido el síntoma, de otro modo los resultados de determinadas investigaciones podrían ser erróneos, ya que el sentido del olfato (que en estos casos queda disminuido) es el que está más desarrollado en la rata.

Otra enfermedad infecciosa que puede pasar desapercibida y que trastorna el comportamiento del animal, es la laberintitis (inflamación del oído medio). El animal que la padece se caracteriza por la imposibilidad de avanzar en línea recta y, además, por decantar la cabeza hacia un lado. Al final del proceso, se observa supuración del oído, pero en fase inicial el examen de éste puede no revelar trastornos observables. De ahí que cuando se detecta la enfermedad cabe suponer que hay más animales afectados que los que manifiestan los síntomas (se han detectado incidencias del 50 por 100, Porter, 1967). La virulencia de la enfermedad es mucho

mayor en las ratas adultas que en las jóvenes de 3 meses. Por este motivo, en caso de observar algún caso de laberintitis, es aconsejable eliminar a los animales mayores y aislar a los jóvenes, mientras están en período de observación.

Otros trastornos de la salud de los animales pueden ser debidos a carencias alimentarias o a contaminantes de la dieta (ver apartado 8, de la 2ª parte del trabajo), o incluso al uso de desinfectantes inadecuados o a concentraciones inadecuadas de éstos que pueden provocar caída del pelo, irritación de la mucosa, fragilidad de las uñas, etc.

En caso de epidemia merece la pena hacer una autopsia de los animales afectados (autopsia que se llevará a cabo en un centro de patología), para identificar la causa de aquella.

5.2. Limpieza del material

La frecuencia de la limpieza viene determinada por el tipo de jaulas, la densidad de población y otros factores. Generalmente, las jaulas y botellas han de limpiarse dos veces por semana (Rogers, 1979) y en caso de observar síntomas de infección conviene hacerlo cada dos días.

Se limpiarán las botellas y las jaulas con agua y jabón después de haber sido vaciado su contenido, y posteriormente, se procederá a la desinfección. No deberá ponerse nunca una botella de una jaula a otra o animales en las jaulas si no han sido previamente desinfectadas. Las virutas de las jaulas se renovarán a diario, en especial las de las jaulas con un grupo de animales, se evitará así el aumento de la concentración de amoníaco.

Los animales que no tienen todavía pelo no deberán ser manipulados. Para limpiar las jaulas que los contienen se procederá a cogerlos junto con un puñado de viruta, de tal manera que la palma de la mano no entre en contacto con la piel de las crías.

El efecto de la periodicidad de la limpieza sobre la productividad fue estudiado por Cisar y Nelson (1967) y concluyeron que era preferible hacerlo dos veces por semana e, incluso, que la limpieza extra podía ser justificada económicamente. Sin embargo, aunque ésta sea la periodicidad ideal, en realidad nuestra experiencia nos indica que, si la densidad de población está dentro de los límites normales y no hay síntomas de enfermedad, es suficiente con limpiar una vez por semana.

En algunos casos, según Moreland (1978), puede ser recomendable no usar detergente y llevar a cabo una limpieza exclusivamente mecánica de las jaulas a una temperatura de 82º C. Se considera que es un método efectivo para eliminar los patógenos ordinarios de los roedores.

En cuanto a las estanterías, conviene limpiarlas regularmente (una vez por semana) con un paño humedecido con desinfectante.

5.3. Limpieza del recinto

Una vez al año se procederá a la desinfección total del estabulario. Además, siempre que se haga renovación de la población, parcial o total, se desinfectará el recinto antes de introducir los nuevos reproductores.

El suelo del estabulario requiere limpieza diaria, con

6. LA RATA DE LABORATORIO

La rata de laboratorio pertenece a:

Orden: Rodentia

Familia: muridae

Parto número	Fecha nacimiento	Número animales vivos	Número animales muertos	Total	Fecha destete	Núm.	Núm. jaula	Núm.	Núm. jaula	Destino

Resumen

En este trabajo se argumenta la necesidad de disponer de un estabulario propio en los centros donde se lleva a cabo investigación básica en Psicología, para asegurar unas condiciones óptimas de los animales y, así, obtener una alta fiabilidad en los resultados de la experimentación. Hemos dividido el trabajo en dos partes: en esta primera se dan las principales orientaciones y normas para organizar y mantener adecuadamente un estabulario de ratas, referidas concretamente a la infraestructura, sistemas de apareamiento, condiciones psicofísicas, higiene y, finalmente, se dan algunas características fisiológicas de la rata Wistar.

Summary

In this paper we discuss the need of access to our own stables in those laboratories where basic research in Psychology is carried out in order to obtain the best conditions for the animals, and, thus, reach the highest reliability of the experimental results. This paper has been divided in two parts: in this first one some hints and regulations are given to adequately organise and attend an rats' stable, referred particularly to the infrastructure, breeding systems, psychophysical conditions, hygiene and, finally, some physiological characteristics of the Wistar rats are given.

Referencias

- BAKER, D. E. J.: «Reproduction and Breeding», en *The Laboratory rat*. Vol. I: *Biology and Diseases*. H. J. Baker, J. R. Lindsey y S. H. Weisbroth (eds): American College of Laboratory. Animal Medical Series: Academic Press, 1979.
- BAKER, H. C.; RUSSELL LINDSEY, J., y WEISBROTH, S. H. «Housing to Control Research Variables», en *The Laboratory rat*. Vol. I: *Biology and Diseases* (H. J. Baker, J. R. Lindsey and S. H. Weisbroth, (eds.): Academic Press, 1979.
- BROADHURST, P. L. «Determinants of emotionality in the rat. I. Situational factors». *British Journal of Psychology*, 1957, 48, 1-12.
- CISAR, C. F., y NELSON, G. «Effects of frequency of cage cleaning on rat litters prior to its weaning». *Laboratory Animal Care*, 1967, 17, 215-217.
- CUMMING, C. N. W., y CUMMING, E. L. W.: «Factors capable of affecting experimental results in laboratory animals». *Carworth Farms Quarterly Letter*, 1955, 39, 1-4.
- EGGENBERGER, E. «Model population zur Beurteilung von Rotations systemen in der versuchstierzucht». *Z. Versuchstierkd*, 1973, 15, 197-331.
- FALCONER, D. S. «Breeding», en G. Porter y W. Lane-Petter, (eds.): *Notes for Breeders of Common Laboratory Animals*: Nueva York, Academic Press, 1962, 111-125.
- FORTMEYER, H. P. «El animal de laboratorio estandarizado y su ambiente» *Symposium sobre el Mantenimiento del Animal de Laboratorio*. Barcelona, mayo, 1979.
- GELLER, E. H. «Health Hazards for Man», en H. J. Baker, J. R. Lindsey y S. H. Weisbroth (eds.): *The Laboratory rat*. Vol. I: *Biology and Diseases*. Academic Press, 1979.
- KELLY, J. B., y MASTERTON, B. «Auditory Sensitivity of the albino Rat». *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 1977, 91, (4), 930-936.
- LUQUE, O., y LECLERQ, I. *Validación poligráfica del método de la plataforma en la privación de sueño paradójico*. Tesina de Licenciatura en preparación, 1984.
- MORELAND, A. F. Chairman «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals». *DHEW Publications*. Nº (NIH), 78-23. 1978, Washington, D.C. U.S. Gout Printing Office.
- PETERSON, N. «Effects of monochromatic rearing on the control of responding by wave length». *Science*, 1962, 136, 774-775.
- PORTER, G. «The Norway Rat», en U.F.A.W. (eds.): *The U.F.A.W. Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals*. Edinburgo y Londres: E. S. Livingston Ltd. 1967.
- ROGERS, E. A. «Nutrition», en J. H. Baker, J. R. Lindsey y S. H. Weisbroth, (eds.): *Laboratory Rat*. Vol. I: *Biology and Diseases*: Academic Press, 1979.
- VALZELLI, L. «Agressivité chez le rat et la souris. Aspects comportementaux et biochimiques». *Actualités Pharmacologiques*, 1971, 24, 133-152.