

RECOMENDACIONES PARA MANIPULACIÓN Y SUJECCIÓN DE RATAS Y RATONES DE LABORATORIO

Ana Carolina Mourelle*, LATG₁, Emiliana Herrero, LATG₂, Micaela Ricca, LATG₃

¹ Bioterio IDEHU-CONICET, Universidad de Belgrano, Buenos Aires, Argentina

² Bioterio ICDME, Hospital Italiano de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina

³ Bioterio Central, Facultad Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile

Recibido: 16 de mayo del 2013 **Aprobado:** 20 de noviembre del 2013

* **Autor de correspondencia:** Ana Carolina Mourelle, IDEHU-CONICET, Junín 956 (1113), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. Teléfono: 54 11 49648239 int. 119. Correo electrónico: carolinamourelle@conicet.gov.ar

Cómo citar este artículo: Mourelle AC, Herrero E, Ricca M. Recomendaciones para manipulación y sujeción de ratas y ratones de laboratorio. *Spei Domus*. 2013; 9(19): 39-47.

Resumen. Cuando hablamos de experimentación con animales, generalmente se centra la atención en los protocolos de investigación, dejando de lado un tema fundamental que es el manejo de los sujetos experimentales. A fin de resaltar la importancia de esto último, nos hemos propuesto dar énfasis en las técnicas de manipulación y sujeción de ratas y ratones de laboratorio privilegiando el bienestar animal, la influencia en la investigación y la seguridad del personal.

Palabras clave: bioterio, laboratorio, rata, ratón, roedores.

Recommendations for Manipulation and Subjection of Laboratory Rats and Mice

Abstract. When we speak of experimentation with animals, we generally focus on research protocols, leaving aside the fundamental matter of handling experimental subjects. To underline the importance of this aspect, we have chosen to emphasize techniques for manipulation and subjection of laboratory rats and mice, prioritizing animal welfare, its influence on research and on the safety of personnel.

Keywords: bioterium, laboratory, rat, mouse, rodents.

Recomendações para manipulação e sujeição de ratos e camundongos de laboratório

Resumo. Quando se fala de experimentação com animais, geralmente se centra a atenção nos protocolos de pesquisa e deixa-se de lado um tema fundamental que é o manejo dos sujeitos experimentais. A fim de ressaltar a importância deste último, propusemo-nos enfatizar as técnicas de manipulação e sujeição de ratos e camundongos de laboratório, o que privilegia o bem-estar animal, a influência na pesquisa e na segurança do pessoal.

Palavras-chave: biotério, laboratório, ratos, camundongos de laboratório, roedores.

Introducción

Los animales de laboratorio están constantemente expuestos a procedimientos de rutina dentro de los bioterios donde se alojan. Es sabido que estas rutinas de cambios de jaula, movimientos de sala en sala, entrada de personal, procedimientos de aseo, supervisión del estado de salud, toma de muestras, etcétera, alteran el estado de homeostasis, modificando variables fisiológicas y comportamentales.

En el comportamiento de los animales de laboratorio intervienen muchas variables, entre ellas el manejo diario y la aclimatación antes de un procedimiento que puede involucrar dolor o no. El impacto de los procedimientos de rutina en los animales es bien conocido y ha

sido ampliamente publicado [1, 2]. Uno de los factores principales es el personal que los maneja. Los animales de laboratorio forman lazos emocionales y reconocen a las personas que usualmente los manejan, como también reaccionan ante situaciones y estímulos desconocidos y con los cuales no están familiarizados [3]; de allí la importancia de la aclimatación previa a los procedimientos.

Siempre que el protocolo experimental lo permita, se recomienda fuertemente establecer sesiones de acostumbamiento al manipuleo de los animales previo al procedimiento experimental en sí. Esto sirve para que tanto el personal como los animales se habitúen tratando de minimizar situaciones de estrés e incomodidad de ambos [4].

Por otro lado, es importante destacar que los animales se comunican entre sí emitiendo ultrasonidos en frecuencias que los humanos no podemos oír [3], y si estamos realizando procedimientos o manipulaciones en una sala donde se alojan animales, notaremos que los últimos que trataremos estarán más alterados [2]. Debido a esto, se recomienda contar con un espacio separado de la sala donde se alojan para realizar procedimientos de manipulación y sujeción, por ejemplo para administrar una sustancia o tomar muestras, para evitar que todos los animales sientan el estrés de unos pocos. Asimismo, si tenemos que trabajar con más de una jaula o un animal en particular, se debe tener la precaución de trasladar sólo la jaula o el animal que se manipulará al lugar del procedimiento [5].

Pero, ¿cómo se pueden predecir las preferencias de un animal? ¿Cómo saber si un animal reaccionará mejor o peor ante ciertas formas de manipulación o ante ciertos procedimientos? Estos conocimientos se pueden adquirir por publicaciones previas [6-8] y sobre todo por la experiencia y el entrenamiento adquiridos por el personal que trabaja a diario con los animales y aprenden a observarlos y a interpretar sus estados anímicos, su salud y bienestar [9, 10].

Las técnicas de manipulación y sujeción son consideradas como no invasivas, pero el impacto de una mala técnica de manipulación y sujeción en los resultados experimentales puede ser significativo. La sugerencia es no minimizar los métodos de manipulación y sujeción, porque es el principio de toda experimentación y del buen proceder en las maniobras. De estos procedimientos depende la respuesta de los animales y en definitiva la obtención de resultados válidos.

Consideraciones para tener en cuenta

Escenarios

Mirado desde una posición antropocentrista, sería válido extrapolar los resultados de una investigación en animales a humanos, entonces también sería lógico plantear que lo mejor para un humano en ciertas circunstancias pueda también ser lo mejor para los animales; y que un animal sentirá miedo y ansiedad ante situaciones similares a las que puede sentir miedo o ansiedad una persona. Por ejemplo, si un niño tiene que vacunarse, asistirá con miedo, principalmente porque es una situación desconocida. Mucho peor si delante de él ve salir llorando a otro niño que pasó por

lo mismo minutos antes. El niño no tiene la voluntad propia de colaborar o si intenta tenerla de todas formas lo vence la angustia y el miedo al elemento filoso y amenazante que le muestra una persona desconocida. Su único consuelo es que su madre lo acompañe y, si ella le asegura que nada le pasará, el niño se sentirá un poco más reconfortado. Incluso la próxima vez que concurra al vacunatorio tendrá una experiencia menos aterradora. En este contexto, una persona adulta sobreviene la situación en forma diferente. Si bien puede experimentar alguna mínima sensación de miedo o ansiedad, posiblemente colabore voluntariamente con el enfermero, así el procedimiento se realizará rápido y “limpio” y eso será beneficioso tanto para el enfermero como para la persona.

Extrapolando estas situaciones a los animales, podríamos decir que un animal, que desde su nacimiento fue confinado a un ambiente silencioso, controlado hasta en los más mínimos detalles y con mínimas perturbaciones, emocionalmente se sentirá inseguro, con angustia, miedo y estrés cuando su rutina diaria se altere a causa de una técnica mal aplicada de manipulación o sujeción [11].

Con esto queremos recalcar la importancia de lograr un clima de trabajo en el que los animales se sientan cómodos, contenidos, y que de preferencia no sea una mano y voz desconocida o un olor extraño quien lo acompañe al momento de realizarse un procedimiento experimental. En el caso de cirugías o procedimientos más complejos, ese entorno conocido debería estar presente hasta que el animal haya sido anestesiado y de preferencia ser el mismo cuando recobre la conciencia. Lógicamente hay procedimientos en los que esta práctica puede ser difícil de cumplir, pero siempre es posible mejorar los procedimientos. Algunos ejemplos: que el técnico cuidador sea quien sujete al animal y lo calme luego del procedimiento; que el animal sea trasladado en una jaula que le resulte familiar, con el mismo lecho que usa a diario; que la temperatura ambiental del laboratorio sea la misma de la sala de los animales. En definitiva, cuanto mejor esté el animal mejor serán los resultados científicos que pueda brindar.

Históricamente, los antecesores de ratas y ratones han tenido mala reputación entre la población humana, sobre todo por haber sido portadores de patógenos que han afectado gravemente a la humanidad. Hoy en día contamos con ratas y ratones de laboratorio que son animales creados y criados en condiciones de confinamiento desde 1900; su comportamiento ha sido domesticado, en la actualidad son dóciles y, por lo general, se relacio-

nan cordialmente con sus cuidadores. Pero el estigma histórico que tienen estas especies animales hace que algunas personas sientan miedo y no logren establecer el vínculo adecuado que se precisa para trabajar con ellos.

Entrenamiento del personal

Una persona con miedo manipula a los animales de forma brusca y descuidada; los animales sienten agresión y toman una actitud defensiva que se manifiesta por mordeduras, escapando o vocalizando; la persona afirma que los animales de laboratorio son agresivos y este es el punto de inicio de una relación inadecuada en la que ambos actores serán perjudicados. Los animales serán sometidos a la fuerza al procedimiento y sufrirán por ello. El investigador no obtendrá los mejores resultados posibles, más bien serán dudosos, variables, y posiblemente precise usar una mayor cantidad de animales [12, 13]. Por eso, antes que nada, una persona que va a trabajar con animales de laboratorio debería dedicar un tiempo previo suficiente para familiarizarse con ellos, perderles el miedo, hablar con sus cuidadores y hasta sería una excelente práctica previa que pudieran intervenir en la rutina de cambio de jaulas y ocuparse de su cuidado durante una o algunas semanas para ganar confianza en sí mismos y conocer a los animales con los cuales trabajará. La formación previa al manejo debe ser bajo tutela de personal que tenga suficiente experiencia, entrenamiento y capacitación, y que esté actualizado sobre técnicas y procedimientos de acuerdo con las normas de refinamiento.

Capacitación y entrenamiento a nivel institucional

Todas las personas involucradas con el cuidado y uso de los animales deben ser entrenadas y calificadas en los principios básicos de la Ciencia de Animales de Laboratorio para asegurar el bienestar animal y la mejor calidad de ciencia [14]. El número de capacitaciones y calificaciones requeridas por el personal depende directamente de cada institución y del desarrollo de un programa institucional de cuidado y uso animal que albergará el capítulo del entrenamiento y capacitación de las personas.

Destacamos que los animales siempre deben ser tratados de forma humanitaria y ese trato comienza por la capacitación para un buen manejo, el compromiso y la responsabilidad de las personas que los manipulan.

Prácticas seguras de trabajo

La manipulación y contención de los animales durante los procedimientos también involucra el seguimiento de varias medidas básicas de protección para reducir el riesgo de exposición personal. Se trata de anticiparse y tomar consciencia de los riesgos que suelen existir durante el manejo de los animales y mantenerlos a un nivel mínimo. La mayoría de los accidentes reportados en la manipulación de animales son por errores humanos o incumplimiento de pautas. Entre ellos podemos mencionar dermatitis de contacto por la exposición a productos químicos, alergia al látex, al talco de los guantes, por rasguños, exposición a vapores tóxicos, aerosoles o partículas, cortes y pinchazos por agujas debido a la eliminación incorrecta [15].

Por todas estas razones destacamos la importancia del uso constante y correcto de los equipos de protección personal (PPE) como guantes, delantales, mascarillas, etcétera. Otra gran preocupación son las alergias. Se ha reportado que un tercio del personal que trabaja con animales de laboratorio desarrolla algún tipo de alergia, ya sea respiratoria, de contacto, edemas, entre otras [14]. Se recomienda realizar un chequeo previo de salud para descartar futuras complicaciones de salud. Para concluir, recomendamos no exponer ningún área de piel desnuda durante los procedimientos.

Técnicas de manipulación y sujeción

Consideraciones previas

Antes de intentar tomar al animal, se debe prestar especial atención en algunos detalles que son clave, a fin de evitar estrés innecesario y sobre todo asegurar el bienestar animal en todo momento.

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

Manejo de ratones

Se ha demostrado que los ratones no se acostumbran fácilmente a una persona como las ratas, pero sí a una técnica de manipulación específica. Al manipular y sujetar a los ratones de experimentación hay que tener en cuenta que por ser de tamaño pequeño pueden lesionarse con facilidad si no se toman correctamente. El manejo debe realizarse con firmeza pero a la vez con suavidad, y sobre todo con confianza.

Existen varias formas de tomar un ratón para trasladarlo desde la jaula a otro lugar, y esto depende de la edad del animal y de la condición sanitaria del mismo. En algunos bioterios sólo se permite que los animales sean manipulados con pinzas adaptadas, sin importar la edad ni condición. Esta técnica generalmente se utiliza en animales libres de todo germen, maximizando la asepsia, pero, por otro lado, minimizando el bienestar animal.

Para comenzar con la técnica de manipulación se debe realizar un acercamiento suave a los animales (figura 1). La forma más utilizada para manipulación de ratones adultos y crías a partir del destete es levantar al animal tomándolo desde la base de la cola (figura 2), lo más distalmente posible del punto medio con los dedos pulgar e índice, sin ejercer demasiada presión; hay que colocarlo de inmediato en la superficie deseada, o bien darle apoyo en la palma de nuestra mano hasta trasladarlo al lugar definitivo (figura 3).

En el caso de las crías, si son recién nacidas se deben tomar en grupo en la palma de la mano (figura 4); es conveniente incluir un poco del material del nido. Para crías desde los siete días, se recomienda tomarlas individualmente, ya que se mueven con mayor facilidad (figura 5).



Figura 1. Acercamiento a los animales

Fuente: Aula Virtual Bioterio



Figura 2. Toma de un ratón adulto

Fuente: Aula Virtual Bioterio

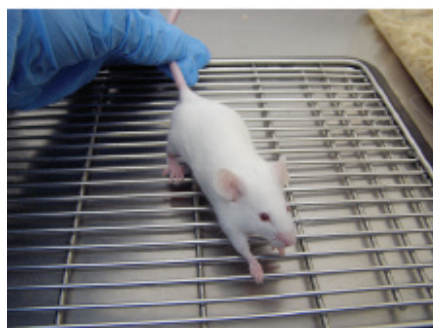


Figura 3. Apoyo sobre una superficie rugosa

Fuente: Aula Virtual Bioterio



Figura 4. Manipulación de crías recién nacidas

Fuente: Aula Virtual Bioterio



Figura 5. Manipulación de crías de ocho días de edad

Fuente: Aula Virtual Bioterio

Inmovilización de ratones

Una vez sujeto el animal por la parte proximal de la cola, se debe colocar sobre una superficie rugosa donde se pueda sujetar con sus patas delanteras. Este proceso lo haremos con la mano diestra. A su vez, con la otra mano tomaremos la piel del dorso inmediatamente detrás de las orejas con los dedos índice y pulgar, sin ejercer demasiada presión, pero firme. Tomar suficiente piel de manera firme para inmovilizar al animal (figuras 6 y 7).

Para impedir que el animal se lesione durante el procedimiento de inmovilización, se evitará aplicar demasiada tensión en el área del cuello al tomar la piel del dorso. Esto podría disminuir la circulación y respiración del animal, resultando en la muerte. Supervisar constantemente la coloración de la piel, mucosa y lengua durante la sujeción, evitando que el animal tome un tono azulado (cianosis).

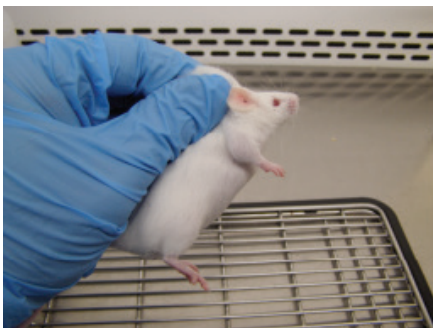


Figura 6. Inmovilización de ratón adulto

Fuente: Aula Virtual Bioterio

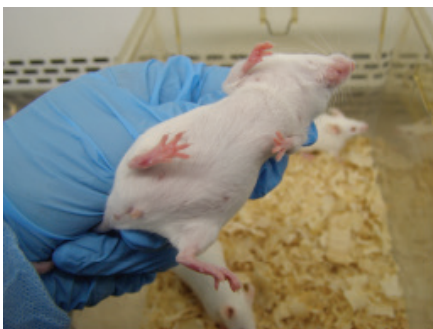


Figura 7. Otra vista de la inmovilización de ratón adulto

Fuente: Aula Virtual Bioterio

Manejo de ratas

Las ratas de laboratorio son menos inquietas que los ratones. Realizan movimientos más lentos pero son

más fuertes que los ratones. Los machos adultos suelen intimidar a muchos investigadores por su tamaño; sin embargo, estos animales suelen ser muy dóciles cuando están acostumbrados a la manipulación.

Existen hoy en día bioterios que reportan tener animales agresivos. Estos problemas de agresividad o rechazo al contacto con el personal, generalmente, están asociados con algún problema ambiental, como puede ser el ruido excesivo, el hacinamiento o la falta de higiene de las jaulas. Además de los factores ambientales mencionados, los animales reaccionan de manera negativa a la manipulación cuando no están familiarizados con el personal a cargo, más aún cuando se les toma por la cola para cambiarlos de una jaula a la otra, o cuando su alojamiento se realiza en jaulas con piso de reja aunque sea de manera temporal, lo que, además de la incomodidad, implica que los animales no son manipulados frecuentemente. Es importante entonces comenzar a refinar todos estos procedimientos desde el mismo momento en que nacen los animales.

Para manipular ratas preñadas o animales grandes también se debe tener la precaución de abordarlas en forma suave (figura 8). Para tomarlas se envolverá con una mano desde el dorso del animal hacia el vientre (figura 9), dándole soporte con toda la palma de la mano (figura 10).

Las crías de rata se manejan de forma similar a las crías de los ratones, evitando, en lo posible, su manipulación durante los primeros dos o tres días de vida, sobre todo si la hembra es primeriza. Los días siguientes pueden cambiarse para la limpieza de las jaulas, tomando el grupo de crías junto con parte del nido, o bien pasándolas una a una hacia la otra jaula (figuras 11 y 12). Si los animales no están habituados al personal, es mejor pasar primero a la hembra, luego un poco del nido de la jaula sucia y, por último, las crías. Cuando las crías tienen entre 10 y 18 días de edad, pasan una etapa en la que son muy movedizas y hay que tener cuidado con los accidentes; se deben sostener sin apretarlas, pero con la firmeza suficiente para restringir sus movimientos.

Cuando las ratas están cercanas al destete se recomienda tomarlas como animales adultos (figura 13). Los animales deben seguir siendo manipulados frecuentemente, como mínimo las veces que se les realiza el cambio de jaula, tomándolos por el lomo o por su vientre, con la palma de la mano.



Figura 8. Acercamiento a las ratas previa manipulación
Fuente: Aula Virtual Bioterio



Figura 12. Manipulación de crías de tres días en forma individual
Fuente: Aula Virtual Bioterio



Figura 9. Manipulación de rata adulta
Fuente: Aula Virtual Bioterio



Figura 13. Toma de ratas de 21 días de edad
Fuente: Aula Virtual Bioterio

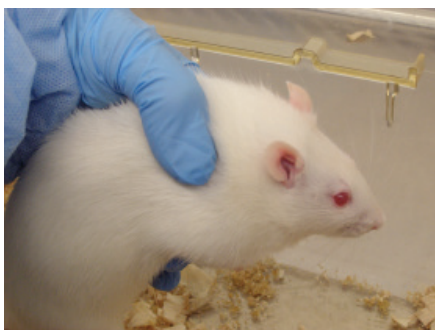


Figura 10. Manipulación de rata adulta
Fuente: Aula Virtual Bioterio



Figuras 11. Manipulación de crías de tres días
Fuente: Aula Virtual Bioterio

Inmovilización de ratas

Para realizar ciertos procedimientos puede ser necesario inmovilizar al animal. Inmovilizar no es sinónimo de forzar ni de apretar con fuerza al animal. Inmovilizar físicamente a una rata de laboratorio significa restringir sus movimientos, poner una barrera, en este caso física, que impida al animal moverse. Existen diferentes maniobras de sujeción para ratas de laboratorio, y se debe evaluar y elegir para cada situación en particular cuál es conveniente utilizar, teniendo en cuenta dos aspectos: primero, que la maniobra elegida deje expuesto el acceso a la parte del cuerpo del animal en el que se precisa trabajar; y segundo, la habilidad, seguridad y preferencia del técnico que va a realizar la sujeción.

Las primeras maniobras consisten en tomar a la rata con la mano hábil por el tórax de forma envolvente —igual que se la toma diariamente para realizar el cambio de lechos—, pero colocando los dedos de la mano que sujeta al animal en diferentes lugares estratégicos que impedirán al animal mover su cabeza y sus patas delanteras. Las ratas de hasta 150 gramos de peso pueden tomarse empleando una sola mano (figuras 14 y 15), pero para las ratas más grandes se precisará utilizar ambas manos. En este último

caso, con la mano libre se da apoyo a los cuartos traseros del animal al mismo tiempo que se sostienen las patas traseras y la cola, impidiendo sus movimientos (figuras 16 y 17). Es importante recordar entonces que para ratas de más de 150 gramos debe haber dos operarios, uno para sujetar al animal y otro para realizar el procedimiento experimental. Estas maniobras son bien aceptadas por las ratas que generalmente no oponen resistencia.



Figura 14. Inmovilización de rata de menos 150 gramos de peso
Fuente: Aula Virtual Bioterio

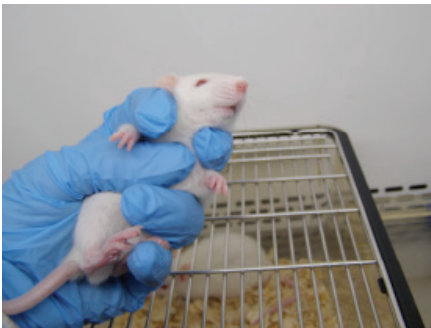


Figura 15. Inmovilización de rata de menos 150 gramos de peso
Fuente: Aula Virtual Bioterio



Figura 16. Inmovilización de ratas adultas de más de 150 gramos de peso
Fuente: Aula Virtual Bioterio



Figura 17. Inmovilización de ratas adultas de más de 150 gramos de peso
Fuente: Aula Virtual Bioterio

La siguiente maniobra de sujeción es conocida con el nombre de “pinzamiento”, y es una adaptación a la técnica utilizada en ratones. Para realizar esta técnica se recomienda tener sesiones de manipulación suave con frecuencia diaria [15]. La ventaja de esta técnica es que permite la exposición y acceso a otras áreas del cuerpo; para ello el personal toma con su mano hábil un pliegue de piel del dorso de la rata (figura 18), iniciando el pinzamiento en la piel de la nuca con los dedos índice y pulgar (figura 19) y continuando con el resto de la mano hacia la piel del dorso hacia caudal. Nuevamente, si es una rata de más de 150 gramos, será necesario dar apoyo con la mano libre a los cuartos traseros para completar la técnica de inmovilización (figura 20).



Figura 18. Técnica de inmovilización por pinzamiento. Inicio de la toma de la piel dorsal del animal
Fuente: Aula Virtual Bioterio



Figura 19. Técnica de inmovilización por pinzamiento. Toma de la piel dorsal del animal

Fuente: Aula Virtual Bioterio



Figura 20. Técnica de inmovilización por pinzamiento. Toma de la piel dorsal del animal y apoyo de cuartos traseros

Fuente: Aula Virtual Bioterio

Conclusiones

Los resultados experimentales que involucran el uso de animales están sujetos a múltiples variables que pueden hacer fracasar el mejor protocolo. En este artículo quisimos destacar un tema que generalmente se minimiza en la experimentación con animales, un buen manejo desde varios puntos de vista, pero siempre apuntando al bienestar animal y a la validez de los datos experimentales. Si bien se ha reportado que los animales se comportan de manera distinta según la cepa, línea y lugar de mantenimiento, la variable más difícil de controlar es la intervención humana. Además, es nuestra responsabilidad tener el entrenamiento y capacitación suficiente para poder realizar las técnicas acordes a las

buenas prácticas de cuidado y uso de animales de laboratorio, refinando las técnicas aquí descritas.

La armonización de entrenamiento y capacitación es un asunto pendiente, hay pocos lugares donde se imparten cursos sobre estos temas fundamentales y mucha demanda a nivel global. Además, sólo en algunos países es requisito obligatorio tener algún tipo de capacitación previa para comenzar a trabajar con animales. Estos puntos débiles son en los que hay que trabajar para crear oportunidades de capacitación para todas las personas que en algún momento tengan contacto con los animales de experimentación.

Referencias

- [1] Castelhana-Carlos MJ, Baumans V. The impact of light, noise, cage cleaning and in-house transport on welfare and stress of laboratory rats. *Lab Anim.* Oct 2009; 43(4): 311-27.
- [2] Balcombe JP, Barnard ND, Sandusky C. Laboratory routines causes Animal Stress. *Contemp Top Lab Anim Sci.* Nov 2004; 43(6): 42-51.
- [3] Brudzynski S, Ociepa D. Ultrasonic vocalization of laboratory rats in response to handling and touch. *Physiol Behav.* Oct 1992; 52(4): 655-60.
- [4] Costa R, Tamascia ML, Nogueira MD, Casarini DE, Marcondes FK. *Handling of Adolescent Rats Improves Learning and Memory and Decreases Anxiety.* *J Am Assoc Lab Anim Sci.* 2012; 51(5): 548-53.
- [5] Swennes AG, Alworth, LC, Harvey SB, Jones CA, King CS; Crowell-Davis SL. *Human Handling Promotes Compliant Behavior in Adult Laboratory Rabbits.* *J Am Assoc Lab Anim Sci.* Ene 2011; 50(1): 41-5.
- [6] Gartner K, Buttner D, Döhler K, Friedel R, Lindena J, Trautschold I. Stress response of rats to handling and experimental procedures. *Lab Anim.* Jul 1980; 14(3), 267-74.
- [7] Kirkden RD, Pajor EA. Using preference, motivation and aversion test to ask scientific questions about animals' feelings. *Appl Anim Behav Sci.* Oct 2006; 100(1-2): 29-47.
- [8] Cloutier S, Panksepp J, Newberry, R. Playful handling by caretakers reduces fear of humans in the laboratory rat. *Appl Anim Behav Sci.* Sep 2012; 140(3-4): 161-71.
- [9] Defensor EB, Corley MJ, Blanchard RJ, Blanchard DC. Facial Expressions of mice in aggressive and fearful contexts. *Physiol Behav.* Dic 2012; 107(5): 680-5.
- [10] Sotocinal SG, Sorge RE, Zaloum A, Tuttle AH, Martin LJ, Wieskopf JS, et al. The Rat Grimace Scale: a partially

- automated method for quantifying pain in the laboratory rat via facial expressions. *Mol Pain*. Jul 2011; 7: 55.
- [11] Brown GM, Martin JB. Corticosterone, prolactin, and growth hormone responses to handling and new environment in the rat. *Psychosom Med*. May-Jun 1974; 36(3): 241-47.
- [12] Hurst J, West R. Taming anxiety in laboratory mice. *Nat Methods*. 2010; 7: 825-6.
- [13] Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Institute for Laboratory Animal Research Division on Earth and Life Studies. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. 8va. ed. Washington DC: National Research Council; 2010.
- [14] Vince McLeod. Nothing to Sneeze About: Laboratory Animal Allergens; 2010. [Consultado: 11 de septiembre del 2013]. Disponible en: <http://www.alnmag.com/articles/2010/09/nothing-sneeze-about-laboratory-animal-allergens>.
- [15] Maurer BM, Döring D, Scheipl F, Küchenhoff H, Erhard MH. Effects of a gentling programme on the behaviour of laboratory rats towards humans. *Appl Anim Behav Sci*. Dic 2008; 111(3-4), 329-41.