

VII. PRACTICAS ESPECIALES

A. ADQUISICIÓN DE ANIMALES

1. Adquisición

Todos los animales deben adquirirse legalmente. Este mismo principio se aplica igualmente a los animales recibidos gratuitamente (véase también El cuidado de los animales de laboratorio, identificación y registros). Es preferible en lo posible obtener especies estándares de animales de experimentación de un criador reconocido o de un abastecedor acreditado. Si embargo, muchas provincias tienen una reglamentación que controla la adquisición de perros (véase también Responsabilidad para el cuidado y uso de los animales de experimentación). En Ontario se inspeccionan los establecimientos destinados a la crianza de animales de laboratorio y se les otorga licencias. Se exige que todos los productores comerciales de animales de laboratorio, sin considerar que estén o no bajo la legislación provincial, prevean instalaciones de alojamiento y observen prácticas similares a las planteadas en este *Manual*.

Es obvio que será el mayor interés del comprador y del abastecedor ver la eliminación de cualquier condición indeseable que afecte la salud y la calidad del animal. Entonces, el comprador (la institución) debería informar el abastecedor de cualquier condición indeseable observada en el momento de la recepción de los animales. El abastecedor debería, si se lo pide, proveer informaciones detalladas sobre el control de salud, la crianza y las prácticas de manejo empleadas.

La adquisición de animales depende de la aprobación previa del proyecto de investigación por el Comité de protección de los animales. Los procedimientos de adquisición deben ser conocidos para asegurarse que la institución tenga un inventario de todos los animales de experimentación para los cuales se responsabiliza, para permitir la preparación de locales adecuados y tomar las medidas necesarias antes de recibir los nuevos animales.

2. Transporte

a) Introducción

Según las especies y el tamaño del animal, los modos de transporte pueden ser por vía terrestre, marítima o aérea. Para la mayoría de las especies de laboratorio el método más común es el transporte terrestre, para distancias relativamente cortas, o por aire para distancias más largas. El objetivo de cualquier método de viaje es garantizar la seguridad y comodidad del animal en las cajas de transporte, y también llevarlos a su destino en la forma más rápida y segura posible.

Aunque muchas agencias se encarguen del transporte de los animales como tales, pocas se interesan en el transporte de animales de experimentación. La Asociación para el Transporte de Animales (anteriormente conocida como el Animal Air Transportation Association) tiene la responsabilidad del mejoramiento de todos los medios de transporte. Existen publicaciones disponibles sobre el tema del transporte de animales. La Federación de las Sociedades Canadienses de Protección de los Animales (CFHS, 1988), por ejemplo, condujo una encuesta sobre el transporte de ganado en Canadá. Además, se realizaron recientemente simposios sobre el bienestar de los animales en tránsito (Gibson, Paterson y Conville, 1986) de la Asociación de

Veterinario Británico, de la Asociación Mundial para el Estudio y la Seguridad de los Animales en Tránsito (Laing, 1991).

b) Reglamentos–cajas y transporte

La Asociación Internacional de Transporte Aéreo (AITA) publica anualmente los *Reglamentos de transporte de animales vivos*, que incluye información sobre la documentación, las cajas y otros requerimientos para el transporte humanitario de animales vivos (IATA, 1992). Esta reglamentación incluye 81 descripciones de cajas según las especies, el diseño y fabricación, los preparativos para el despacho, directrices sobre la alimentación, el cuidado general y el embarque. Aunque la información es específica para el transporte aéreo, las exigencias para las cajas son aplicables a todos los modos de transporte, ya que asegura la seguridad, la comodidad, y el bien estar de los animales (Rowsell, 1992).

A fin de asegurar un contenido técnico preciso, la AITA prepara sus *reglamentos* en consulta con representantes de la Convención sobre el Comercio Internacional de las Especies Silvestres de la Fauna y Flora Amenazados de Extinción y de la Office International des Epizooties. Desde más de diez años, el Consejo Canadiense de Protección de los Animales (CCPA), el Consejo Internacional de Ciencias de Animales de Laboratorio, así como también el Eurogrupo para el Bienestar Animal, han establecido relaciones estrechas con la Comisión AITA para los animales vivos, que se ocupa principalmente de puntos relativos al transporte de animales experimentales.

La legislación Canadiense sobre el transporte incluye la Ley (federal) sobre la salud de los animales (C-66, Junio, 1990, rev. marzo, 1992; 38-39 Elizabeth II, capítulo 21), la Ley (Ontario) sobre los animales destinados a la investigación (Estatutos enmendados de Ontario, 1980, capítulo 22, enmendados en 1989, capítulo 72, s6 y reglamentos 16,17,18,19), y, en Alberta, las Universities Act (Section 50, "Dog Control and Procurement"; reglamentos 341-366). En 1972, el Alberta Regulation 33-72 fue mejorado para incluir el tratamiento de **animales** (Rowsell, 1974). También, existen legislaciones específicas sobre el transporte de animales en las provincias, y reglamentos específicos en los municipios.

El transporte de animales desde los Estados Unidos para Canadá está afectado por la ley del U.S. Department of Agriculture's Animal Welfare Act (1966) que especifica las temperaturas mínimas y máximas a las que se deben mantener los animales en tránsito. El U.S. Department of the Interior, U.S. Fish and Wildlife Service, son responsables de la importación de los pájaros y mamíferos silvestres. También es el U.S. Department of the Interior que tiene la responsabilidad de la aplicación del Marine Mammal Protection Act.

c) El estrés del transporte

Una de las variables más difícilmente controlable en la experimentación animal es el efecto sobre la investigación ocasionado por el movimiento de los animales desde un lugar a otro (Landi, Kreider, Lang *et al.* 1982, 1985; Aguila, Pakes, Lai *et al.* 1988; Bean-Knudsen y Wagner, 1987, Reinhardt, 1992). Esto puede implicar grandes distancias entre países o distancias menores, tales como las recorridas en el interior de las mismas instalaciones. El solo hecho de mover a los animales dentro del bioterio afecta los índices de estrés, que pueden llegar a ser importantes si el individuo que hace el transporte es un extraño (Gärtner, Büttner, Döhler *et al.* 1980).

Las causas de estrés en el transporte de animales incluyen la inexperiencia de las personas que hacen las manipulaciones, la demora en preparativos durante el tránsito y en la llegada al destino, y las condiciones a lo largo del transporte, p. ej., caminos en mal estado, transporte ferroviario difícil, mar agitada y turbulencias de aire. Otros factores importantes

incluyen: la comodidad de las cajas y si estas son convenientes, el tiempo necesario para que los animales se adapten a las cajas antes del transporte, la temperatura y ventilación de las cajas y del ambiente y la distintas zonas de temperatura que puedan atravesar los animales. Es imprescindible hacer los adecuados arreglos previos relativos al transporte de los animales, a fin de minimizar el tiempo pasado en tránsito.

El estrés de transporte se puede minimizar evitando las largas distancias, los sistemas lentos y, como fue mencionado, aclimatando a los animales a las cajas y, cuando sea posible, al modo de transporte. Kiley-Worthington (1990) demostró en estudios sobre el transporte de animales de circo y de zoológico, que aquellos que no estaban acostumbrados a las manipulaciones (es decir, los animales silvestres o no domesticados o no acostumbrados al confinamiento), sufrirán probablemente más que los otros. Aunque haya mucho interés sobre los animales de circo, perros de exposición o caballos de competición sometidos a transportes regularmente, este investigador informó que “nada permite creer que el transporte de los animales de circo es necesaria o habitualmente estresante o traumatizante para los animales, aunque que lo sea para el ganado no acostumbrado.”

Frecuentemente se descuida capacitar a las personas involucradas en el transporte de animales. Aunque se sepa que las personas responsables del transporte de animales sin experiencia pueden afectarlos considerablemente, no se ha hecho mucho para entrenarlos apropiadamente. En 1978, el CCPA produjo un documento audio-visual sobre el “Transporte Humanitario de Animales Vivos”, que fue distribuido a todas las compañías aéreas y otras agencias involucradas en el transporte de animales (Fletch, 1978; Rowsell, 1990).

Los principios enunciados en el programa de capacitación producido por el CCPA continúan siendo aplicables hoy. Se menciona, por ejemplo, que el personal responsable del transporte de animales, incluyendo los empleados de bioterio, necesitan tener conocimientos sobre los diversos tipos de animales, las diferencias entre las especies de pájaros y de mamíferos, además de nociones sobre los invertebrados. También deben conocer las exigencias relativas a las cajas de transporte y las especificaciones requeridas para etiquetar y marcarlas, y para llenar la documentación apropiada, que incluye las exigencias de licencias, ambos para la exportación y el país de destino. Deben conocer las responsabilidades tanto de los que envían como de los que reciben a los animales. Deben también darse cuenta de la importancia de hacer arreglos previos relativos a la expedición y al transporte de animales.

La responsabilidad de conocer los medios seguros y humanitarios de transporte de animales incluye también a las personas que trabajan de alguna manera con animales, o que tienen alguna responsabilidad para su transporte terrestre, aéreo o marítimo. La institución que recibe los animales debe estar preparada para aceptarlos, teniendo listas las instalaciones adecuadas y el personal experimentado en la manipulación de animales.

d) Manipulación de los animales

Los animales en un laboratorio se adaptan a las condiciones ambientales, tales como la temperatura, humedad, los cambios de aire, ruidos, las costumbres de los cuidadores, las feromonas animales o humanas (sustancias secretadas y liberadas por animales para la detección y la respuesta por otros de las mismas especies). Todo lo citado anteriormente puede cambiar cuando se los transporta hacia el bioterio o adentro del mismo (Slatnetz, Fratta, Crouse *et al.* 1957; Baker, Lindsey y Weisbroth, 1979; Gibson, Paterson y Conville, 1986; Aguila, Pakes, Lai *et al.* 1988; Rowsell, 1988). Desafortunadamente, muchos de estos cambios no se han medido cabalmente (Yousef, 1988). También se cuestionó mucho respecto a la conveniencia de pruebas seguras usadas para medir el estrés inducido por cambios ambientales. Cambios de comportamiento tales como un incremento de agitación, una manipulación difícil, la negación de

comer o beber, el erizamiento del pelo, la disimulación, y las anomalías de comportamiento pueden no ser percibidas, pero pueden ocasionar variaciones en los datos experimentales.

Por lo tanto es esencial permitir a los animales aclimatarse a un nuevo ambiente. Como el período de aclimatación varía para cada animal y entre especies, es imprescindible adquirir conocimientos sobre las especies animales y sobre cada tipo de animal. Cuando un animal llega a su destino, la institución debe asegurarse que el transporte se hizo de manera segura y humanitaria. Es muy importante que los vehículos para el transporte estén equipados de un sistema de climatización apropiado, a fin de disminuir los factores de estrés que pueden haber aumentado durante el transporte. Antes de usar a los animales en las experiencias, se debe aclimatarlos al ambiente en forma total y estabilizarlos desde los puntos de vista fisiológico y del comportamiento. Landi, Kreider, Lang *et al.* (1982) demostraron que, luego de un transporte aéreo, los roedores necesitaban un período de dos semanas para que la sangre y los parámetros de estrés vuelvan a la normal. La adhesión a los principios de manipulación y transporte humanitarios durante el viaje o a la llegada a la institución, deberían contribuir para lograr resultados significativos y científicamente válidos, cuando los animales se usan en investigación, enseñanza o en pruebas

3. Crianza

Este *Manual* no pretende establecer un repertorio de todos los métodos modernos de crianza de animales. Sin embargo, es obvio que todos los tipos de animales involucrados en programas de crianza con el propósito de investigar la producción animal, requieren el mejor cuidado y se deben guardar registros precisos de crianza (Box, 1976). Es esencial que tanto los criadores como los investigadores que se proponen criar animales destinados a investigaciones específicas, adquieran informaciones detalladas sobre la anatomía, comportamiento y fisiología de la reproducción de esos animales (Altman y Dittmer, 1972; Greep, 1974; Hafez, 1970; Crawford, 1990). Blaffer-Hrdy y Whitten (1987) presentan datos comparativos para primates no humanos (PNH) sobre el ciclo estral, duración de las menstruaciones, señales visuales y el comportamiento de machos y hembras durante el estro para todas las especies. Los criadores deberían referirse a los capítulos de este *Manual* que tratan de las cajas y del alojamiento especial de diversas especies.

Si se quiere establecer un modelo animal de enfermedad humana, el científico o el criador debe conocer a fondo los procesos básicos fisiológicos y patológicos de la enfermedad. La institución de investigación es generalmente el mejor lugar para este tipo de crianza. Sin embargo, en algunas circunstancias puede ser preferible obtener una cepa mutante particular, a través de una empresa comercial confiable, o por arreglo con algún otro científico quien ya críe y utilice el mismo modelo (ILAR, 1979). La crianza de cualquier animal de laboratorio debe hacerse según los estándares y la nomenclatura genética aceptada (Festing, Kondo, Poiley *et al.* 1972; ILAR, 1979; Lyon, 1981; Lyon y Searle, 1989), temas estos que no están tratados en este *Manual*.

La decisión de establecer un programa de colonia de cría en una institución de investigación pertenece al investigador y al Comité de protección de los animales de la institución, que deben hacer un estudio detallado de la naturaleza del proyecto. A menos que la crianza sea parte integral, sino esencial de la investigación o de la enseñanza, se debería siempre evaluar: a) el costo real (para la institución) de los animales criados dentro del edificio de la institución; b) la ocupación de espacio valioso y costoso que no será disponible para otra investigación; y c) el número de animales a producir, comparativamente al número de animales que se utilizarán. Los pequeños programas caseros de cría casi siempre involucran la necesidad de disponer de animales que son inútiles para los fines del proyecto, y el mantenimiento de reproductores en exceso para satisfacer las demandas fluctuantes.

Para la producción comercial de ganado, la selección se puede basar sobre la ascendencia, la progenie o el desempeño individual, o una combinación de estos factores. Sin embargo, en especies pequeñas de animales de laboratorio, se enfatiza el mantenimiento de la pureza genética (Festing, Kondo, Poiley *et al.* 1972). Hubo dudas en años recientes sobre la homogeneidad genética de ciertas cepas, y eso llevó a hacer pruebas genéticas de los animales. Los abastecedores más importantes de pequeños animales de laboratorio proveen un control genético para sus reservas y sus cepas, y pueden proveer servicios de prueba genética a los investigadores que usan otras cepas de animales.

La naturaleza genética de una población animal puede cambiarse de tres maneras: por selección; mediante la manipulación del sistema de crianza; o por la alteración del genoma mediante la introducción de genes ajenos (DeTolla, 1991). Tradicionalmente, la rapidez con que los cambios genéticos aparecen en una población depende en parte del sexo de los animales seleccionados. La hembra tiene menor efecto que el macho sobre el diferencial de selección máxima, ya que el macho produce muchos descendientes. La decisión con respecto a la selección de los animales reproductores dependerá de muchos criterios directamente relacionados con el propósito del programa de crianza.

4. Crianza de animales transgénicos

El tiempo requerido para producir grandes números de animales transgénicos depende de la capacidad reproductiva del animal. Los animales transgénicos se consideran ahora como herramientas estándar de investigación biomédica (Saffer, 1992) y cada vez más como modelos animales de enfermedades humanas (Merlino, 1991), en terapia génica, en estudios de enfermedades virales, en la expresión fisiológica de genes extraños (Palmiter y Brinster, 1986; Geistfeld, 1991), como sondas en sistemas complejos (Hanahan, 1989), y como modelos para estudios de toxicología genética (Myhr y Brusick, 1991). Su uso aumenta, y desde luego, se ha identificado como una causa importante en el primer incremento en el uso de animales de laboratorio en Inglaterra desde hace muchos años (Anon., 1992).

Geistfeld (1991) describió recientemente el manejo de una colonia de ratones transgénicos, y ha sido publicado un manual de procedimientos por Hogan, Constantini y Lacey (1986). También existen numerosas publicaciones (Brinster, Chen, Trumbauer *et al.* 1985; Bishop y Smith, 1989; Depamphilis, Herman, Martinez-salas *et al.* 1988; Gordon, Scangos, Plotkin *et al.* 1980; Jaenisch, 1976, 1988) que describen el uso de animales transgénicos. The Britain's Health and Safety Executive publicó los *Guidelines on Work with Transgenic Animals* (1989) (Baynards House, 1 Chapstow Place, London, W2), que deben ser aplicados cuando se creen, crían o se manipulen animales transgénicos en el Reino Unido (Connor, 1989).

Geistfeld (1991), en su descripción del manejo de una colonia de ratones transgénicos, sugiere que los ratoncillos nacidos por cesárea sean usados a fin de eliminar los agentes patógenos. Diversos sistemas de crianza pueden ser establecidos; habitualmente, un sistema de harén 2:1 a 3:1 es efectivo, aunque no existan reglas absolutas.

Donnelly y Walsh-Mullen (1991) señalaron algunos de los problemas asociados con la crianza de ratones transgénicos. Estos incluyen la contaminación de los medios usados en la colecta de huevos y de blastocitos para micro inyección, causa de que la madre portadora no logre parir. También notan que la introducción de genes extraños puede provocar inserciones nocivas que llegan a ser letales para el animal o que comprometen su reproducción.

El CCPA creó recientemente un comité sobre la biotecnología animal, cuyo mandato es: “desarrollar directrices sobre la manipulación de embriones, la investigación fetal, y los animales transgénicos”. *El comité sobre la biotecnología animal considera aceptable la investigación sobre las manipulaciones transgénicas/embrionarias para producir animales, que no tienen un impacto*

negativo sobre el bienestar de los mismos o sobre el ambiente, y que ofrecen resultados positivos y científicamente justificables. Según el Comité, si la tecnología transgénica resulta en nuevas especies o nuevas cepas de animales, se deben desarrollar métodos de investigación para probar el impacto que tendrán tales animales. Algunas de las instituciones de Canadá han preparado sus directrices propias sobre la investigación que involucra animales transgénicos.

5. Modelos animales con necesidades especiales

Los modelos animales de enfermedades humanas se usan para estudiar las causas y los métodos terapéuticos y preventivos de las enfermedades humanas, así como para desarrollar también nuevas drogas (Nomura, Katsuki, Yokoyama *et al.* 1987). Existen modelos de muchas enfermedades y condiciones, tales como la hemofilia (Moake, 1988) la aterosclerosis (Reddick, Lee, Brinkhous *et al.* 1990; Farrell, Saunders, Freeman *et al.* 1986), pasteurellosis (Morck, Costerton, Bolingbroke *et al.* 1990), enfermedades intestinales (Pfeiffer, 1985), la degeneración hepática (Hultgren, Stevens y Hardy, 1986), enfermedades entéricas tales como el *Campylobacter jejuni* (Fox, Ackerman, Taylor *et al.* 1987), las cardiomiopatías (Wagner, Reynolds, Weisman *et al.* 1986) y las enfermedades neurológicas (Barnes, 1986). Durante un simposio del British Laboratory Animals Veterinary Association, se discutió sobre los modelos animales que contribuyen a la comprensión de las enfermedades, tales como la hipertensión, las enfermedades del tracto gastrointestinal y las cardiovasculares (Anon., 1986). En otro encuentro, el enfoque fue sobre los desafíos que los investigadores tienen que enfrentar, tales como el virus del síndrome de inmunodeficiencia adquirida o SIDA y la necesidad de modelos animales al respecto (Groopman, 1991).

Los modelos animales de algunas condiciones o enfermedades tienen necesidades especiales más allá de las exigencias generales de contar con animales de laboratorio saludables y normales. Cuando tales modelos animales están por ser utilizados en la investigación se deben identificar y satisfacer estas necesidades especiales. Es responsabilidad del investigador principal tomar en consideración dichas necesidades antes de emprender un proyecto de investigación. Estas necesidades especiales tendrán seguramente un impacto sobre el presupuesto de la investigación, desde el punto de vista del tiempo adicional para el cuidado de los animales, el material y el equipo necesario. Las Comité de protección de los animales deben evaluar los protocolos experimentales, así como las necesidades especiales de los animales.

El principio de base de esta responsabilidad para cumplir con las necesidades especiales de los modelos animales podría ser formulado de la siguiente manera: cualquier dolor, sufrimiento, ansiedad y/o deficiencia funcional que perjudican el bienestar de los animales, y que no sean científicamente “necesarios” para la investigación, deben ser eliminados o minimizados. El mismo principio se aplica para los costos o las disposiciones materiales. Además, tan pronto como se terminen los estudios, los animales víctimas de sufrimiento se deben destruir humanitariamente (Olfert, 1992).

6. Identificación de sexos

Generalmente, los machos y las hembras se guardan separados después del destete, a menos que exijan lo contrario las necesidades de crianza o los protocolos de investigación. Se debe evitar el apareamiento no planificado de los stocks de reproductores en condiciones experimentales, porque compromete los resultados experimentales.

La identificación del sexo puede ser difícil en el recién nacido o en especies con las cuales uno no esté acostumbrado. Además de los órganos genitales, en algunos casos pueden usarse las características sexuales secundarias (Valle, 1990). Se encontrarán descripciones detalladas

de las técnicas/observaciones para la identificación del sexo de las diferentes especies de animales de laboratorio en el *Manual* del CCPA, Volumen 2, en los capítulos que tratan de las especies animales, o en otras publicaciones generales sobre las especies utilizadas en el laboratorio (Poole, 1987). También existen descripciones de las técnicas usadas para determinar el sexo de algunas especies menos comunes (Goin y Goin, 1971; Frye, 1991; Marcus, 1981).

B. CONTENCIÓN Y MANIPULACIONES

1. Contención física

a) Introducción

Es necesario inmovilizar la mayoría de los animales, aún para los procedimientos más simples (p. ej., para tomar la temperatura). Cuando la inmovilización química de corta duración (p. ej., anestésica, tranquilizante, etc.) no sea posible y/o no está compatible con los requerimientos experimentales, puede ser usada alguna otra forma de inmovilización física/mecánica.

Es bien conocido el hecho de que la calidad de la inmovilización influirá sobre la respuesta del animal (Hemsworth, Barnett y Hansen, 1986). Con roedores de laboratorio, Lee (1992) sostiene que “no hay mejor inmovilización que las manos de un técnico capaz.” Se demostró que una rata está menos perturbada al ser manipulada por un técnico experimentado en lugar de uno totalmente novato que tiene miedo de ser mordido (Barclay, Herbert y Poole, 1988). Se sabe que el estrés de inmovilización tiene un efecto sobre el desempeño de las ratas (Grilly y Gowans, 1986). Paré y Glavin (1986) revisaron los datos sobre el estrés ligado a la inmovilización.

Los animales se acostumbran a las inmovilizaciones livianas, repetidas y de corta duración que no están acompañadas de procedimientos estresantes o dolorosos. Las inmovilizaciones de larga duración están acompañadas de manifestaciones de estrés, a menos que el animal haya experimentado un largo período de aclimatación a las condiciones experimentales, y no haya sido sometido a ningún procedimiento doloroso mientras esté inmovilizado (Golub y Anderson, 1986; Rushen, 1986). El nivel de estrés varía de un animal al otro en la misma situación y puede afectar los resultados experimentales.

Dos de los factores que tienen una influencia preponderante sobre el grado de estrés experimentado por un animal inmovilizado, son el aislamiento de sus congéneres (durante la inmovilización) y el grado de inmovilización. Estos dos factores deberían considerarse si el procedimiento experimental requiere que el animal sea inmovilizado. El contacto visual, auditivo y olfativo con sus congéneres puede bastar para reducir el nivel de estrés. Las ovejas, por ejemplo, deberían poder ver a otras ovejas, aún cuando tengan la libertad de moverse en el cercado de aislamiento (véase también *Las necesidades sociales y comportamentales de los animales de experimentación*).

En todas las situaciones en que se requiera la inmovilización física de larga duración, se tiene que utilizar métodos que hayan sido previamente justificados y aprobados por los pares y el Comité de protección de los animales institucional, según las directrices establecidas por el CCPA. Se tiene que asegurar que no existen otros medios para obtener los resultados buscados en los animales no inmovilizados. El animal inmovilizado requerirá siempre una atención especial, además de cuidados y una vigilancia apropiados (véase también *Las necesidades sociales y comportamentales de los animales de experimentación*, las *Categorías de técnicas invasivas en la experimentación animal* y los *Principios éticos de la investigación con animales*, encontrados en otra parte de este *Manual*).

b) Directrices generales para el cuidado de animales inmovilizados

- i) Los procedimientos de inmovilización se deberían utilizar únicamente después de que todo otro procedimiento no estresante haya sido rechazado como alternativa.
- ii) La vigilancia de animales mantenidos en dispositivos de inmovilización debería hacerse bajo la responsabilidad de personal capacitado y experimentado.
- iii) El investigador principal tiene la responsabilidad de asegurarse de que todos los miembros del equipo de investigación, particularmente los responsables del cuidado diario de los animales, sean totalmente conscientes de las razones que justifican los procedimientos de inmovilización y de las complicaciones que pueden ocurrir en los animales durante la inmovilización.
- iv) Para asegurarse de que una inmovilización mínima será utilizada para lograr los objetivos de la investigación, se debe consultar a personas experimentadas que conocen bien los procedimientos de inmovilización elegidos antes de aplicarlos.
- v) Los investigadores deben tener en cuenta los cambios físicos, bioquímicos y hormonales que aparecen en todo animal inmovilizado, y considerar cómo afectarán los resultados de la investigación (Gärtner, Büttner, Döhler *et al.* 1980; Toth y January, 1990; Moberg, 1992; Bush, Custer, Smeller *et al.* 1977; Mayer y Bowman, 1972; Markowitz y Spinelli, 1986).

c) Vigilancia especial

Los comentarios siguientes se aplican generalmente a todos los animales inmovilizados; sin embargo, se refieren especialmente a la inmovilización en los PNH:

- i) No importa la duración de la inmovilización, se debe prestar una atención especial al desarrollo posible de efectos nocivos inherentes.
- ii) Se debe, al menos dos veces por día, hacer un examen físico cuidadoso de cada animal inmovilizado.
- iii) La inspección debe incluir además del examen físico, la evaluación del comportamiento general. Se debería registrar diariamente cuando sea posible el peso del animal, su consumo de agua y alimentos. Cuando suceden problemas o parámetros fisiológicos sufren variaciones importantes, se deben aplicar inmediatamente todas las medidas terapéuticas necesarias.

d) Dispositivos de inmovilización

Los dispositivos desarrollados para la inmovilización de corta duración de los animales de experimentación, incluyen una jaula de plástico para los oposumes (Thomason y Russell, 1986), un dispositivo agudo de inmovilización para los monos rhesus descrito como “una alternativa práctica y barata de reemplazo de la silla estándar para primates” (Robbins, Zwick, Leedy *et al.* 1986), y un aparato para los animales pequeños que permite la grabación a corto plazo de datos fisiológicos (Yagiela y Bilger, 1986). El uso de tablillas, desarrolladas para el cerdo miniatura por Panepinto (Panepinto, Phillips, Norden *et al.* 1983) se aplica ahora a las ratas y a los conejos (Kumar, Wong, Johnson *et al.* 1979) y a otras especies. Las tablillas para ratas y conejos son disponibles en el comercio (p. ej., Harvard Bioscience, Ealing Scientific Ltd., 6010 Vanden Abeele,

St-Laurent, Quebec, Canada, H4S 1R9), y para ganado y perros (Munk's Livestock Sling Mfg. Inc., 1143 W. Marches Pt. Rd., Anacortes, WA 98221 USA).

Se hacen esfuerzos para fabricar sistemas de inmovilización menos restrictivos que permitan tomar muestras o proteger el equipamiento (Houghton, 1985; Anderson y Houghton, 1983; Dalton, 1985; Munson, 1974). El tipo de equipamiento incluye: catéteres intravenosos de largo plazo (por lo menos seis a ocho semanas) para la alimentación parenteral de las ratas no inmovilizadas (Brenner, Muller, Walter *et al.* 1985), un sistema de aparato dorsal para inyecciones con una mini-bomba en los monos títies (Ruiz de Elvira y Abbott, 1986), y un sistema que se sujeta al animal para la administración intravenosa y intragástrica de droga en el mono mandril (Lukas, Griffiths, Bradford *et al.* 1982).

Los científicos buscan continuamente nuevos métodos que disminuyan el estrés de las tomas de muestras como la bilis (Rath y Hutchison, 1989; Kanz, Vanoye-Trevino y Molsen, 1989) y la sangre (Lawhorn, 1988). Se debe recordar que los esfuerzos para reducir el estrés de los controles involucran frecuentemente el entrenamiento y la socialización del animal al procedimiento (Vanderlip, Vanderlip y Myles, 1985a, 1985b).

El hecho de tener vías de acceso al sistema vascular permite las tomas repetidas de sangre y la administración de drogas en una variedad amplia de animales con una inmovilización mínima (Houghton, 1985). Estas vías consisten en un catéter intravascular conectado con un tanque dotado de un diafragma (Dalton, 1985; Harvey-Clark, 1990). El vaso sanguíneo apropiado se canula y el tanque está puesto debajo de la piel en un lugar conveniente. Se puede acceder al vaso a canular sin dolor si se utiliza una crema analgésica tópica. Además se pueden sacar las muestras utilizando una técnica estéril a fin de evitar la contaminación en la vía entrada al vaso sanguíneo. Estas vías de entrada en los vasos están mantenidas abiertas por la adición de una solución de heparina, y pueden permanecer funcionales por muchos meses o años.

Chatham (1985) desarrolló un equipamiento llamado “chaqueta y sistema de sujeción pivotante”. Se trata de un sistema de inmovilización menos restrictivo que facilita los movimientos de los animales pero permite, sin embargo, la toma de muestras, la protección de los instrumentos o del equipamiento. Este sistema facilita movimientos más elaborados y permite ejecutar simultáneamente tomas de fluidos, inyección de drogas, y medidas de control electrónico. El animal sujetado a este sistema puede vivir cómodamente y de manera humanitaria durante meses, mientras está conectado a muchos instrumentos. La flexibilidad y el peso liviano del sistema de sujeción, combinado a una ligera fricción del pivote, inhibe muy poco la actividad normal del animal en su jaula (Alice King Chatham Medical Arts, 5043 Oaknoll Ave., Los Angeles, CA 90043; Harvard Bioscience, Ealing Scientific Ltd., 6010 Vanden Abeele, St-Laurent, Quebec, Canada, H4S 1R9).

El sistema “vara y cuello” (Anderson y Houghton, 1983) provee un medio regulable y eficiente de entrenar monos a salir calmadamente de sus jaulas, entrar en los dispositivos de inmovilización por el tiempo requerido para el procedimiento, y volver a sus jaulas sin necesidad de usar agentes químicos o fuerza (Houghton, 1985).

Los sistemas de biotelemedicina se utilizan cada vez más para transmitir a distancia información biológica sobre un animal. Existe una gran variedad de estos sistemas, que va desde el aparato dorsal hasta los que pueden ser totalmente implantados (Halpryn, 1985).

2. Implantación, cánula y muestras

Los estudios crónicos que involucran la implantación de electrodos, cánulas y catéteres exigen que el animal sea anestesiado durante la implantación, e inmovilizado despierto cuando se toman muestras.

Las implantaciones de electrodos deben realizarse bajo la supervisión directa de personal experimentado en las técnicas involucradas y se deben utilizar procedimientos quirúrgicos y

anestésicos apropiados (Meyer y Meyer, 1971; NIH, 1991) (véase también Normas para la cirugía en animales de experimentación). Existen muchas fuentes de información detalladas sobre las técnicas de cirugía estereotáxica (Hart, 1969; Pellegrino y Cushman, 1971; Skinner, 1971; Singh y Avery, 1975).

3. Toma de sangre

Han sido publicadas recientemente en Gran Bretaña directrices para la toma de sangre de pájaros y mamíferos de laboratorio (BVA/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement, 1993). A fin de reducir el volumen de las muestras de sangre, se deben hacer esfuerzos constantes para refinar las técnicas científicas. En pequeños animales tales como ratones, el volumen de sangre y la frecuencia de las tomas tienen una importancia particular. Si el bienestar del animal está amenazado por el volumen de las tomas requeridas, se deberían usar más animales, o hacer transfusiones sanguíneas compensatorias.

En vez de tomar múltiples muestras haciendo punciones repetidas con una aguja, se debería utilizar una aguja mariposa o una cánula percutánea (encima de la aguja) fija en la posición.

Para tomar volúmenes superiores a 0.1 ml, de sangre, se deberían utilizar agujas del mayor calibre posible, a fin de facilitar la toma rápida de sangre sin colapso de la vena y evitar, de esta manera, la formación de hematomas. Antes de tomar una muestra, es importante ubicar la vena con precisión y dilatarla haciendo una presión ligera o calentándola. Si se calienta todo el cuerpo, se debe vigilar el animal constantemente para impedir la hipertermia, que se manifiesta por una respiración más rápida, el jadeo o la salivación. No se recomienda el uso de xileno (xilol, dimetilbenzena) como agente dilatador, porque causa irritaciones cutáneas.

El Anexo VIII de este *Manual* describe los sitios comunes de toma de sangre.

4. Procedimientos de motivación

En la conducción de estudios sobre el comportamiento, el uso de refuerzo positivo (p. ej., la recompensa en forma de un alimento preferido) es preferible al uso de una estimulación adversa (Lea, 1979). El documento del CCPA sobre los *Principios éticos de la investigación con animales* (encontrado en otra parte de este *Manual*) también nota que los investigadores, los Comités de protección de los animales y los Comités de Revisión aconsejan de “ser especialmente prudentes cuando evalúan...los electrochoques como refuerzo negativo.” En otra parte de este *Manual* abajo del Uso de animales en la psicología, se nota:

“En forma semejante, cuando los investigadores usan choques eléctricos como medio de producir estrés o de motivar a los animales para escaparse o esconderse, saben muy bien que no hay electrochoque en la naturaleza. Presumen, sin embargo, que este método particular de aversión fácilmente controlable, puede servir de modelo para situaciones análogas o desagradables que ocurren en la naturaleza y que afectan los comportamientos....”

Se recomienda fuertemente a los investigadores utilizar la combinación intensidad del choque x duración x frecuencia menos repulsiva que es compatible con las metas de la investigación (Olfert, 1992). Los valores particulares de estos parámetros variarán entonces con las especies y con la meta de la investigación. En muchas circunstancias, hay procedimientos bien desarrollados para determinar el valor apropiado del choque, basado sobre los criterios de comportamiento. Por ejemplo, los procedimientos de “graduación” permiten el valor mínimo de

choque que mantendrá un comportamiento determinado, el cual será determinado para cada animal en particular. En todos los casos, es responsabilidad del investigador de establecer la selección de los valores de choque sobre criterios del comportamiento, a fin de utilizar el choque menos repulsivo que permitirá la colecta de datos metódicos y el éxito de la investigación. Por ejemplo, la selección arbitraria de una intensidad “baja”, “mediana” y “alta”, sin considerar cuidadosamente los efectos de estos valores sobre los comportamientos y la interacción de los comportamientos provocados con los resultados del comportamiento deseado, puede ocasionar sufrimientos inútiles y la pérdida de animales de experimentación, y comprometer así a investigación.

Cuando el choque está utilizado en combinación con otros agentes de estrés, el investigador debería ser consciente de la posibilidad de adición de los efectos negativos.

C. REFERENCIAS

AGUILA, H.N., PAKES, S.P., LAI, W.C. and LU, Y.-S. The effect of transportation stress on the splenic natural killer cell activity in C57BL/6J mice. *Lab. Anim. Sci.* 1988; 38(2): 148-151.

ALTMAN, P.L. and DITTMER, D.S. *Biology data book*, Vol. 1. Bethesda, MD: Federation of American Societies for Experimental Biology, 1972.

ANDERSON, J.H. and HOUGHTON, P. The pole and collar system. A technique for training and handling non-human primates. *Lab Animal* 1983; 12(6): 47-49.

ANIMAL WELFARE ACT OF 1966 (Public Law 89-544, (a) as amended by the Animal Welfare Act of 1970 (Public Law 91-579); the Animal Welfare Act of 1976 (Public Law 94-279); (b) as amended by the Improved Standards for Laboratory Animals Act of December 1985 (Public Law 99-198) (Deputy Administrator, U.S. Department of Agriculture, APHIS-VS, Federal Bldg., 6505 Belcrest Road, Hyattsville, MD 20782, USA).

ANON. Animal models advance understanding of diseases. *Vet. Rec.* 1986: 118(18).

ANON. Decline in animal experiments halted. *Vet. Rec.* 1992; 131(5): 86.

BAKER, H.J., LINDSEY, J.R. and WEISBROTH, S.H. Housing to control research variables. In: Baker, H.J., Lindsey, J.R. and Weisbroth, S.H., eds. *The laboratory rat*. Vol. 1. New York, NY: Academic Press, 1979: 169-172.

BARCLAY, R.J., HERBERT, W.J. and POOLE, T.B. The disturbance index: a behavioural method of assessing the severity of common laboratory procedures on rodents. Potters Bar, South Mimms, Herts, U.K.: Universities Federation for Animal Welfare, 1988.

BARNES, D.M. Bird chimeras may be models for certain neurological diseases. *Science* 1986; 232: 930-932.

BEAN-KNUDSEN, D.E. and WAGNER, J.E. Effects of shipping stress on clinicopathologic indicators in F344/N rats. *Am. J. Vet. Res.* 1987; 48(2): 306-308.

BISHOP, J.O. and SMITH, P. Mechanism of chromosomal integration of micro-injected DNA. *Mol. Biol. Med.* 1989; 6: 283-298.

BLAFFER-HRDY, S. and WHITTEN, P.L. Patterning of sexual activity. In: Smuts, B.B., Cheney, D.L., Seyfarth, R.M., Wrangham, R.W. and Struhsaker, T.T., eds. Primate societies. Chicago, IL: University of Chicago Press, 1987: 370-384.

BOX, P.G. Criteria for producing high quality animals for research. *Lab. Anim. Sci.* 1976; 26: 334.

BRENNER, U., MULLER, J.M., WALTER, M. and KELLER, H.W. A catheter system for long-term intravenous infusion in unrestrained rats. *Lab. Anim.* 1985; 19: 192-194.

BRINSTER, R.L., CHEN, H.Y., TRUMBAUER, M.E., YAGLE, M.K. and PALMITER, R.D. Factors affecting the efficiency of introducing foreign DNA into mice by micro-injecting eggs. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1985; 82: 4438-4442.

BRITISH VETERINARY ASSOCIATION/FUND FOR THE REPLACEMENT OF ANIMALS IN MEDICAL EXPERIMENTS/ROYAL SOCIETY FOR THE PREVENTION OF CRUELTY TO ANIMALS/UNIVERSITIES FEDERATION FOR ANIMAL WELFARE JOINT WORKING GROUP ON REFINEMENT. Removal of blood from laboratory animals and birds. *Lab. Anim.* 1993; 27: 1-22.

BUSH, M., CUSTER, R., SMELLER, J. and BUSH, L.M. Physiological measures of non-human primates during physical restraint and chemical immobilization. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.* 1977; 171: 866.

CANADIAN FEDERATION OF HUMANE SOCIETIES. Surface livestock transportation in Canada. A survey. Nepean: CFHS, 1988. (CFHS, 102-30 Concourse Gate, Nepean, Ontario K2E 7V7.)

CHATHAM, A.K. Jacket and swivel tethering systems. *Lab Animal* 1985; 14(8): 29, 31-33.

CONNOR, S. A shepherd for transgenic animals. *New Scientist* 1989; January 21: 25.

CRAWFORD, R.D., ed. Poultry breeding and genetics. Amsterdam: Elsevier, 1990.

DALTON, M.J. The vascular port. *Lab Animal* 1985; 15(5): 21-23, 29-30.

DEPAMPHILIS, M.L., HERMAN, S.A., MARTINEZ-SALAS, E., CHALIFOUR, L.E., WIRAK, D.O., CUPO, D.Y. and MIRANDA, M. Micro-injecting DNA into mouse ova to study DNA replications and gene expression and to produce transgenic animals. *BioTechniques* 1988; 6: 662-680.

DETOLLA, L. Overview of transgenic systems. *AALAS (Amer. Assoc. Lab. Anim. Sci.) Bull.* 1991; 30(1): 9-12.

DONNELLY, T.M. and WALSH-MULLEN, A. Problems that limit or complicate breeding transgenic mice. *Lab Animal* 1991; 20(3): 34-35.

FARRELL, A.P., SAUNDERS, R.L., FREEMAN, H.C. and MOMMSEN, T.P. Arteriosclerosis in atlantic salmon: Effects of dietary cholesterol and maturation. *Arteriosclerosis* 1986; 6(4): 453-461.

FESTING, M., KONDO, K., POILEY, S.M. and SPEIGEL, A. International nomenclature for

outbred stocks of laboratory animals. ICLAS (Intern. Coun. Lab. Anim. Sci.) Bull. 1972; 30.

FLETCH, A. Humane air transportation of live animals (Canadian Council on Animal Care training package). In: Proc. 4th Animal Air Transportation Association International Meeting. Toronto, Ont.: AATA, 1978: 55-66.

FOX, J.G., ACKERMAN, J.I., TAYLOR, N., CLAPS, M. and MURPHY, J.C. *Campylobacter jejuni* infection in the ferret: An animal model of human campylobacteriosis. Am. J. Vet. Res. 1987; 48(1): 85-90.

FRYE, F.L. Biomedical and surgical aspects of captive reptile husbandry. 2nd Ed. Malabar, FL, 1991.

GÄRTNER, K., BÜTTNER, D., DÖHLER, K., FRIEDEL, R., LINDENA, J. and TRAUTSHOLD, I. Stress response of rats to handling and experimental procedures. Lab. Anim. 1980; 14: 267-274.

GEISTFELD, J.G. Transgenic mouse colony management. Lab Animal 1991; 20(1): 21-29.

GIBSON, T.E., PATERSON, D.A. and CONVILLE, G. The welfare of animals in transit. Proc. The Animal Welfare Foundation, 3rd Symposium. London: British Veterinary Association Animal Welfare Foundation, 1986. (7 Mansfield St., London, England W1M 0AT.)

GOIN, C.J. and GOIN, O.B. In: Introduction to herpetology. 2nd Ed. 1971: 115, 96.

GOLUB, M.S. and ANDERSON, J.H. Adaptation of pregnant rhesus monkeys to short-term chair restraint. Lab. Anim. Sci. 1986; 36(5): 507-511.

GORDON, J.W., SCANGOS, G.A., PLOTKIN, D.J., BARBOSA, J.A. and RUDDLE, F.H. Genetic transformation of mouse embryos by micro-injection of purified DNA. Proc. Natl. Acad. Sci. 1980; 77: 7380-7384.

GREEP, R.O., ed. Reproductive physiology. In: MTP Int. Rev. Sci. Physiol., series 1,8. Baltimore, MD: University Park Press, 1974.

GRILLY, D.M. and GOWANS, G.C. Comparison of the effects of morphine and immobilization stress on discrimination performance of rats. Behav. Neurosci. 1986; 100(4): 512-524.

GROOPMAN, J.E. Of mice, monkeys and men. Nature 1991; 349: 568-569.

HAFEZ, E.S.E., ed. Reproduction and breeding techniques for laboratory animals. Philadelphia, PA: Lea and Febiger, 1970.

HALPRYN, B. Biotelemetry monitoring systems. Lab Animal 1985; 14(6): 21-27, 29, 31.

HANAHAN, D. Transgenic mice as probes into complex systems. Science 1989; 246: 1265-1275.

HART, B.L. Experimental neuropsychology: A laboratory manual. San Francisco, CA: W.H. Freeman & Co., 1969.

HARVEY-CLARK, C. Clinical and research use of implantable vascular access ports in avian species. In: Proc. of the 1990 annual conference of the Association of Avian Veterinarians, 1990: 191.

HEMSWORTH, P.H., BARNETT, J.L. and HANSEN, C. The influence of handling by humans on the behaviour, reproduction and corticosteroids of male and female pigs. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 1986; 15: 303-314.

HOGAN, B., CONSTANTINI, F. and LACEY, E. *Manipulating the mouse embryo: A laboratory manual.* Cold Spring Harbor, NY, 1986.

HOUGHTON, P. Animal handling systems. *Current trends in animal restraint.* *Lab Animal* 1985; 14(5): 20.

HULTGREN, B.D., STEVENS, J.B. and HARDY, R.M. Inherited, chronic, progressive hepatic degeneration in Bedlington Terriers with increased liver copper concentrations: Clinical and pathologic observations and comparison with other copper-associated liver diseases. *Am. J. Vet. Res.* 1986; 47(2): 365-377.

INSTITUTE OF LABORATORY ANIMAL RESOURCES. *Animals for research.* 10th Ed. Washington, DC: National Academy of Sciences, 1979.

INTERNATIONAL AIR TRANSPORT ASSOCIATION. *Live Animals Regulations,* 19th Ed. Montreal: IATA, 1992. (2000 Peel Street, Montreal, Quebec H3A 2R4.)

JAENISCH, R. Germ line integration and Mendelian transmission of the exogenous Moloney Leukemia Virus. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1976; 73: 1260-1264.

JAENISCH, R. Transgenic animals. *Science* 1988; 240: 1468-1473.

KANZ, M.F., VANOYE-TREVINO, C. and MOSLEN, M.T. The use of a silastic shield to protect an externalized biliary cannula. *Lab. Anim.* 1989; 23: 36-38.

KILEY-WORTHINGTON, M. *Animals in circuses and zoos. Chiron's world?* Basildon, Essex, U.K.: Little Eco-Farms Pub., 1990: 41-44. (29 Delhi Road, Pitsea, Basildon, Essex SS13 2EH, U.K.)

KUMAR, A., WONG, D.A., JOHNSON, R.G., HERBERT, M.A. and SALTER, R.B. The restraint of rabbits in a special sling. *Lab. Anim. Sci.* 1979; 29(4): 512-515.

LAING, J.A., ed. *Prevention, management and repair of trauma in transport animals.* Oxford, U.K.: World Association for Transport Animal Welfare and Studies, 1991.

LANDI, M.S., KREIDER, J.W., LANG, C.M. and BULLOCK, L.P. Effects of shipping on the immune functions in mice. *Am. J. Vet. Res.* 1982; 43: 1654-1657.

LANDI, M., KRIEDER, J.W., LANG, C.M. and BULLOCK, L.P. Effect of shipping on the immune functions of mice. In: Archibald, J., Ditchfield, J. and Rowsell, H.C., eds. *The contribution of laboratory animal science to the welfare of man and animals.* Stuttgart, New York: Gustav Fischer

Verlag, 1985: 11-18.

LAWHORN, B. A new approach for obtaining blood samples from pigs. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.* 1988; 192(6): 781-782.

LEA, S.E.G. Alternatives to the use of painful stimuli in physiological psychology and the study of animal behaviour. *ATLA (Alternatives To Laboratory Animals) Abstracts* 1979; 7(1): 20.

LEE, P. (correspondence) *Lab. Anim. Sci.* 1992; 42(6): 433.

LUKAS, S.E, GRIFFITHS, R.R., BRADFORD, L.D., BRADY, J.V. and DALEY, L. A tethering system for intravenous and intragastric drug administration in the baboon. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1982; 17: 823-829.

LYON, M.F. Ch. 3 Nomenclature. In: Foster, H.L., Small, J.D. and Fox, J.G., eds. *The mouse in biomedical research, Volume I. History, genetics and wild mice.* New York, NY: Academic Press, 1981.

LYON, M.F. and SEARLE, A.G., eds. *Genetic variants and strains of the laboratory mouse.* 2nd Ed. Oxford: Oxford University Press, 1989.

MARCUS, L.C. *Veterinary biology and medicine of captive amphibians and reptiles.* Philadelphia, PA: Lea and Febiger, 1981.

MARKOWITZ, H. and SPINELLI, J. Environmental engineering for primates. In: Benirschke, K., ed. *Primates. The road to self-sustaining populations.* New York, NY: Springer-Verlag, 1986: 489-498.

MAYER, J.S. and BOWMAN, R.E. Rearing, experience, stress and adrenocorticosteroids in the rhesus monkey. *Physiol. Behav.* 1972; 88: 339.

MERLINO, G.T. Transgenic animals in biomedical research. *FASEB J.* 1991; 5: 2996-3001.

MEYER, P.M. and MEYER, R.D. Neurosurgical procedures with special reference to aspiration lesions. In: Meyer, R.D., ed. *Methods in psychobiology, Vol. 1.* New York, NY: Academic Press, 1971.

MOAKE, J.L. (editorial) Von Willebrand factor and the pathophysiology of thrombotic thrombocytopenia: From human studies to a new animal model. *Lab. Invest.* 1988; 59(4): 415-417.

MOBERG, G.P. Stress: diagnosis, cost and management. In: Mench, J.A., Mayer, S.J. and Krulisch, L., eds. *The well-being of agricultural animals in biomedical and agricultural research.* Bethesda, MD: SCAW (Scientists Center for Animal Welfare), 1992: 58-61. (4805 St. Elmo Ave., Bethesda, MD 20814 USA.)

MORCK, D.W., COSTERTON, J.W., BOLINGBROKE, D.O., CERI, H., BOYD, N.D. and OLSON, M.E. A guinea pig model of bovine pneumonic pasteurellosis. *Can. J. Vet. Res.* 1990; 54: 139-145.

MUNSON, E.S. Arterial cannulation in awake restrained monkeys. *Lab. Anim. Sci.* 1974; 24: 793.

MYHR, B. and BRUSICK, D. A transgenic mouse model for genetic toxicology studies. *Lab Animal* 1991; 20(1): 31-35.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH. Preparation and maintenance of higher animals during neuroscience experiments. Report of a National Institutes of Health workshop, 1991.

NOMURA, T., KATSUKI, M., YOKOYAMA, M. and TAJIMA, Y. Future perspectives in the development of new animal models. In: *Animal models: assessing the scope of their use in biomedical research*. Alan R. Liss, Inc., 1987: 337-353. (Canadian distributor, J. Wiley & Sons Ltd., 22 Worcester Rd., Rexdale, Ont. M9W 1L1.)

OLFERT, E.D. Ethics of animal models of neurological diseases. In: Boulton, A.A., Baker, G.B. and Butterworth R.F., eds. *Neuromethods: animal models of neurological disease*. I. Clifton, NJ: Humana Press, 1992: 1-28.

PALMITER, R.D. and BRINSTER, R.L. Germ-line transformation of mice. *Ann. Rev. Genet.* 1986; 20: 465-499.

PANEPINTO, L.M., PHILLIPS, R.W., NORDEN, S., PRYOR, P.C. and COX, R. A comfortable, minimum stress method of restraint for Yucatan miniature swine. *Lab. Anim. Sci.* 1983; 33(1): 95-97.

PARÉ, W.P. and GLAVIN, G.B. Restraint stress in biomedical research: A review. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 1986; 10: 339-370.

PELLEGRINO, L.J. and CUSHMAN, A.J. Use of stereotaxic technique. In: Meyer, R.D., ed. *Methods in psychobiology*. New York, NY: Academic Press, 1971.

PFEIFFER, C.J., ed. *Animal models for intestinal disease*. Boca Raton, FL: CRC Press, 1985: 135-145.

POOLE, T., ed. *UFAW (Universities Federation for Animal Welfare) handbook on the care and management of laboratory animals*. 6th Ed. Harlow, Essex: Longman Scientific and Technical, 1987.

RATH, L. and HUTCHISON, M. A new method of bile duct cannulation allowing bile collection and re-infusion in the conscious rat. *Lab. Anim.* 1989; 23: 163-168.

REDDICK, R.L., READ, J.S., BRINKHOUS, K.M., BELLINGER, D., NICHOLS, T. and GRIGGS, T.R. Coronary atherosclerosis in the pig. Induced plaque injury and platelet response. *Arteriosclerosis* 1990; 10(4): 541-550.

REINHARDT, V. Transport-cage training of caged rhesus macaques. *Anim. Tech.* 1992; 43(1): 57-61.

ROBBINS, D.O., ZWICK, H., LEEDY, M. and STEARNS, G. Acute restraint device for rhesus monkeys. *Lab. Anim. Sci.* 1986; 36(1): 68-70.

ROWSELL, H.C. Legislation regulations pertaining to laboratory animals-Canada. In: Melby, E.C. Jr. and Altman, N.H., eds. CRC handbook of laboratory animal science. Vol. 1. Cleveland, OH: CRC Press, 1974: 11-17.

ROWSELL, H.C. Perspectives of the welfare of animals during transportation. In: Erichsen, S., Coates, M.E. and Chatikavanij, P., eds. Proc. IX International Council for Laboratory Animal Science international symposium on laboratory animal science. Bangkok, Thailand: ICLAS, 1988: 313-320.

ROWSELL, H.C. Current perspectives on the problems related to the transport of live animals. Proc. Animal Transportation Assoc. 16th Annual Conference. Dallas, TX: AATA, 1990: 19-24.

ROWSELL, H.C. Transportation of animals. A global animal welfare issue. Live Animal Trade and Transport Magazine 1992 March: 37-41.

RUIZ DE ELVIRA, M.-C. and ABBOTT, D.H. A backpack system for long-term osmotic mini-pump infusions into unrestrained marmoset monkeys. Lab. Anim. 1986; 20: 329-334.

RUSHEN, J. Aversion of sheep to electro-immobilization and physical restraint. Appl. Anim. Behav. Sci. 1986; 15: 315-324.

SAFFER, J. Transgenic mice in biomedical research. Lab Animal 1992; 21(3): 30-38.

SINGH, D. and AVERY, D.D. Physiological techniques in behavioural research. Belmont, CA: Wadsworth Publishing Co., 1975.

SKINNER, J.E. Neuroscience: A laboratory manual. Philadelphia, PA: W.B. Saunders Co., 1971.

SLATNETZ, G., FRATTA, I., CROUSE, G. and JONES, S. Stress and transportation of animals. In: Proc. Animal Care Panel 1957; 7: 278-289.

TOTH, L.A. and JANUARY, B. Physiological stabilization of rabbits after shipping. Lab. Anim. Sci. 1990; 40(4): 384.

THOMASON, J.J. and RUSSELL, A.P. A plastic cage for restraint of the opossum (*Didelphis virginiana*). Lab. Anim. Sci. 1986; 36(5): 547-549.

VALLE, F.P. Sex-typing newborn rats: An improved procedure with agouti strains. Behav. Res. Meth. Instru. 1990; 2: 205.

VANDERLIP, S.L., VANDERLIP, J.E. and MYLES, S. A socializing program for laboratory raised canines. Part 1. Lab Animal 1985a; 14(1): 33-36.

VANDERLIP, S.L., VANDERLIP, J.E. and MYLES, S. A socializing program for laboratory-raised canines. Part 2: The puppy socialization schedule. Lab Animal 1985b; 14(2): 27-36.

WAGNER, J.A., REYNOLDS, I.J., WEISMAN, H.F., DUDECK, P., WEISFELDT, M.L. and SNYDER, S.H. Calcium antagonist receptors in cardiomyopathic hamster: Selective increases in heart, muscle, brain. Science 1986; 232: 515-518.

YAGIELA, J.A. and BILGER, P.A.L. A custom restraining device for small animals. *Lab. Anim. Sci.* 1986; 36(3): 303-305.

YOUSEF, M.K. Animal stress and strain: definition and measurements. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 1988; 20: 119-126.