

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA Y ANIMAL
LICENCIATURA EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

INFORME FINAL DE SERVICIO SOCIAL

Sistemas reproductivos mediante el correcto manejo de la cepa NIH

Alumno: Arriaga González María Fernanda

Matrícula: 2182035910

Asesoras:
Dra. Ivonne Michelle Heuze de Icaza
No. económico: 11261

M en S Nora Rojas Serranía
No económico: 13315



Lugar de realización: Unidad de Producción y Experimentación de Animales de Laboratorio (UPEAL)- Bioterio de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco (UAM-X)

Fecha de inicio y término:

Del 1 de Marzo de 2024 al 1 de Septiembre de 2024.

1. Planteamiento del problema y justificación:

La experimentación biomédica en animales ha sido fundamental para comprender a fondo la fisiología de los diferentes sistemas del cuerpo humano y animal, así como la patogénesis de enfermedades infecciosas y degenerativas. Esto ha permitido avances significativos en el conocimiento de diversas enfermedades, su tratamiento y prevención.

El uso de animales en investigación, enseñanza, pruebas de laboratorio, producción de biológicos y perfeccionamiento de técnicas quirúrgicas ha sido y sigue siendo crucial para el desarrollo de las ciencias médicas y de la salud. Los avances en este campo se deben en gran medida a los experimentos realizados en una amplia variedad de especies animales, los cuales han contribuido a mejorar el bienestar y la calidad de vida tanto de los humanos como de los animales.

En este contexto, la Unidad de Producción y Experimentación de Animales de Laboratorio (UPEAL)-Bioterio de la Universidad Autónoma Metropolitana tiene la responsabilidad de suministrar animales de laboratorio de alta calidad genética y microbiológica para la investigación científica.

2. Introducción

Los bioterios funcionan como instalaciones especializadas en la crianza y cuidado de animales con características genéticas y microbiológicas específicas y controladas. Estos animales, denominados biomodelos, se emplean en investigaciones científicas y requieren un manejo y uso riguroso para garantizar la aplicación de estándares internacionales, obtener resultados de alta calidad y confiabilidad (Fernández., *et al* 2007).

El ratón es el animal más utilizado en las pruebas de diagnóstico e investigación, conjuntamente con el pez zebra y la rata alcanzan al 90 % de todos los animales usados con fines científicos. La disponibilidad comercial, su pequeño tamaño, vida

relativamente corta, su alta tasa reproductiva, su bajo costo de mantenimiento y la adaptación a la explotación en grandes colonias, permiten que sea una de las especies de laboratorio más estudiadas. El conocimiento completo de su genoma, su anatomía, su fisiología, su amplia variabilidad genética, la aparición de enfermedades espontáneas, la susceptibilidad a agentes químicos y microbianos, han permitido desarrollar modelos animales de enfermedades similares a las desarrolladas en el humano y en otras especies animales (Benavides *et al.*, 2003; Benavides, 2024).

El empleo de animales de investigación y enseñanza involucra responsabilidad de quienes los utilizan; por tanto, es un deber evitar la crueldad y procurar su bienestar. Actualmente se impulsa una tendencia en países de Europa y Estados Unidos para no utilizar animales de laboratorio, universidades como Harvard o Stanford consideran su uso como método educativo obsoleto. La nueva posibilidad es utilizar herramientas alternativas para sustituir las prácticas con animales a través del apoyo de simuladores por computadora, maniqués, contar con laboratorios in vitro, estudios de campo o cadáveres de animales que hayan muerto de manera natural (Delgado *et al.*, 2018). Sin embargo, cuando no se cuenta con herramientas alternativas al uso de animales, los procedimientos que se realicen deben cumplir con un justificado propósito científico y de enseñanza, poseer una expectativa razonable en cuanto a incrementar el conocimiento sobre los diferentes procesos biológicos y proveer la habilidad necesaria para el manejo adecuado de técnicas. Es necesario tomar en cuenta que esta técnica sólo se justifica en la ciencia cuando ese conocimiento sea en beneficio de la humanidad o de los animales. (Falconi *et al.*, 2017).

Objetivo general

Garantizar la producción de ratones NIH bajo altos estándares de calidad para la investigación científica en UPEAL-Bioterio de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco

Objetivos específicos

Aplicar las mejores prácticas para el manejo y cuidado de la cepa de ratón NIH brindando siempre bienestar animal

Recopilar y analizar datos de reproducción específicos para cada lote.

Contar con un control de los registros de reproducción de cada lote sobre natalidad y eutanasia

Adquirir habilidades para la cría y reproducción de ratones NIH en condiciones libres de patógenos

4. Marco Teórico

4.1 Nomenclatura para animales no consanguíneos

La mayoría de los ratones que son utilizados en investigación, pertenecen a grupos que conocemos como cepas de animales no consanguíneos, exocriados o exogámicos. Su gran popularidad se debe especialmente a que son más baratos que las líneas consanguíneas, son muy buenos reproductores y mansos para su manejo en el laboratorio (Danneman *et al.*, 2013).

Debido a la falta de homogeneidad genética estos grupos de animales deben ser nombrados como “grupos” (stocks) ó “cepas”. Por la misma razón no existe una nomenclatura oficial sobre estos animales; los últimos reglamentos son de 1972 y no son aplicados con uniformidad. Actualmente existen dos tendencias: (1) utilizar nombres con 2 a 6 letras en mayúscula y aclarar en el texto que se trata de animales exocriados (SENCAR, NMRI o ratas WISTAR) y (2) usar un nombre compuesto colocando en primer lugar el código del laboratorio y luego de dos puntos, el nombre del grupo (puede agregarse entre paréntesis el origen). Por ejemplo, CrI:CD-I (ICR) Criado en el Charles River Laboratories o N:NIH (S) es un stock denominado NIH de origen Swiss (S) criado en el National Institute of Health (NIH) (Lynch, 1969).

4.2 Origen

La colonia original de ratones NIH-Swiss en Estados Unidos comenzó con 9 ratones que se importaron de Lausanne, Suiza en 1926 por Clara Lynch. En 1932 pasaron a LT Webster Rockefeller Institute. En 1935 al National Institute of Health y estos ratones fueron los fundadores de la colonia de propósito general. En 1936 el N:NIH (S) se derivó de esta colonia. (Lynch, 1969).

4.3 Generalidades del ratón

El ratón de laboratorio (*Mus musculus*) es una especie que deriva del ratón común. Se trata de un mamífero de sangre caliente, con hábitos nocturnos y con una conducta altamente influenciada por feromonas (Benavides *et al.*, 2020). Un ratón adulto mide entre 12 a 15 cm (desde la punta de la nariz hasta la punta de la cola), con un peso aproximado de 30 gramos. Mientras que, al nacer, cada cría tiene un peso que va de 1 a 5 gramos. Nacen sin pelo, con los ojos y oídos cerrados. Al tercer día de edad comienza a observarse el desarrollo del pelaje, llegando a cubrirse totalmente desde los 7 a 10 días (Fuentes *et al.*, 2008; Heuze, 2023).

Sus vibrisas (bigotes faciales), son largas y gruesas; les sirven como sistema sensorial para explorar, identificar texturas, aromas y para el mantenimiento del equilibrio. Hay cinco tipos de vibrisas en los roedores y tienen un promedio de treinta en cada lado de la cara del roedor. (Maravall *et al.*, 2017).

4.4 Comportamiento del ratón

Generalmente el ratón es un animal muy sociable, dócil y de fácil manejo, sin embargo, si se les aísla pueden sufrir de estrés y presentar conductas agresivas, principalmente los machos. Por lo que la existencia de un macho dominante es muy frecuente en los grupos (AAALAC, 2017; Prescott *et al.*, 2011).

La actividad del ratón es principalmente nocturna por lo que su vista se encuentra muy poco desarrollada, es por ello que los sentidos más agudos son el olfato y el tacto. En la orina del macho existen compuestos odoríferos muy fuertes que son

aprovechados para marcar territorio y regular la actividad sexual y social (Benavides *et al.*, 2020; Danneman *et al.*, 2013).

4.5 Ciclo reproductivo

Hembras: La hembra es poliéstrica continua. El ciclo estral (proestro, estro, metaestro y diestro) tiene una duración aproximada de 3 a 4 días con un estro de 8-12 horas. Además, tienen la capacidad de tener un estro posparto lo que permite que una hembra quede preñada 24 horas después del parto. Cada hembra en promedio puede tener de 6-12 crías que son destetadas a los 21 días de edad con un peso de 11 a 14 g. (Heuze, 2023).

Machos: El esperma coagula dentro de la vagina a modo de “tapón vaginal” relativamente duro, con una duración aproximada de 6 a 12 horas. Este tapón está formado por la mezcla de secreciones de las glándulas sexuales de ambos. Gracias a este tapón vaginal la hembra puede ser fecundada sólo por un macho (Fuentes *et al.*, 2008; Danneman *et al.*, 2013).

5. Metodología

El servicio social será realizado bajo la supervisión y asesoría de la MVZ Fabiana Lisbeth Martínez Piñera y la Dra. Ivonne Heuze, quienes se encargarán de capacitar al pasante durante el desarrollo del mismo.

La capacitación inicial tendrá una duración de 15 días y tiene como objetivo que el pasante aprenda las rutinas diarias, los sistemas de esterilidad de la zona, el manejo de los animales y las actividades necesarias para lograr los objetivos del proyecto.

Durante el desarrollo del proyecto, el pasante se encargará de:

- ☐ Controlar la crianza, apareamientos, partos, destetes y selección de pie de cría y población existente dentro del Bioterio.
- ☐ Llevar un registro detallado de la reproducción de los animales.

- Llevar el registro de animales entregados a investigación y convenios patrocinados.
- Cambio de cajas
- Limpieza y llenado de bebederos
- Limpieza del cuarto donde se encuentra la cepa NIH
- Rotación del macho, para así asegurar de alguna forma la gestación de las hembras utilizadas para cada apareo
- Protocolos de desparasitación para así mantener animales libres de patógenos

El área de ratones NIH se encuentra ubicado en la planta baja de la UPEAL-Bioterio. La UPEAL-Bioterio es un área con acceso restringido, para acceder a ella es necesario la utilización de un lector biométrico, en el cual se registran de manera previa los rostros de las personas autorizadas para ingresar y monitorear las entradas y salidas del personal a cargo de las colonias, así como su temperatura. Este sistema de control de acceso empieza desde las puertas de acceso principal, y dan autorización para ingresar, las puertas cuentan con un sistema de cortinas de aire que funcionan como una primera barrera para evitar la entrada de insectos o agentes contaminantes al interior de las instalaciones. Las puertas de tipo exclusiva que se encuentran en un área restringida para el personal del Bioterio y alumnos de servicio social, dan acceso a la recepción, área administrativa, área de baños, bodegas, autoclaves y cuarto de máquinas.

Una vez que el personal pase esta puerta con la autorización del biométrico tiene que dirigirse a la zona de baños para realizar el cambio de ropa y portar la indumentaria esterilizada requerida, que consta de overol, escafandra y botas con suela de hule antiderrapante. Dichas prendas están diseñadas y manufacturadas con tela Chemstat 969 Z Plus de acuerdo con las recomendaciones de "The Institute of Environmental Science and Technology" en "IEST-RP-CC003-2" las cuales pueden ser usadas en Clase ISO4 (clase 10) de bioseguridad y la fábrica entrega certificado de las mismas. Con el uniforme correctamente vestido, se debe pasar a la regadera de aire filtrado por filtros HEPA

(*High Efficiency Particle Arrestance*) con una eficacia de 99.99% la cual no permite el paso de partículas mayores de $0.03\ \mu$. Dicha regadera o ducha de aire funciona automáticamente al cerrarse las puertas por un período de 30 segundos y no permite la salida hasta no haber concluido con el proceso de desinfección y solo se puede ingresar al interior de la Unidad de Producción ya que las demás puertas se mantienen cerradas, respetando así el flujo de personal unidireccional. Es importante mencionar que en estas áreas no se permitió llevar maquillaje, cadenas ni accesorios de ningún tipo, no se pueden utilizar equipos que produzcan ruidos o timbres que perturben a los animales (radios, teléfonos celulares, radiolocalizadores). Posterior a la ducha y ya en el interior de la Unidad de Producción, se desinfectaron las manos con espuma sanitizante que contiene cloruro de benzalconio al 0.1% marca Nobact de Pharmacal Research Lab, logrando su acción a los 15 segundos y posteriormente se colocan los guantes desechables de látex para comenzar el manejo con los animales.

Para llevar a cabo el cambio de caja se realizan los siguientes pasos:

1. Las cajas se recogen manualmente en el área blanca y se llevan al cuarto mediante un carro transportador.
2. Las jaulas de los animales que se van a cambiar deben estar limpias y se colocará viruta de madera como encamado.
3. Antes de iniciar el cambio de las jaulas el operador deberá ponerse un par de guantes estériles y posterior a esto se inicia el cambio
4. Se quita la rejilla para poder cambiar a los animales de caja y se revisa el nivel de agua del bebedero de la jaula limpia observado la válvula de este que indica si sale o no el agua, de igual manera se observa que el animal no presente estereotipia o tenga alguna mordedura; ya que si lo esta será necesario realizar eutanasia en la cámara de CO₂.
5. Se debe de escribir en la tarjeta del registro de la jaula las observaciones o anotaciones correspondientes como: inicio de apareo, salida de apareo, gestación, parto, destetes, número de lote, etc.

6. Este procedimiento se repetirá en cada cambio de jaula y al término del cambio de cama se procede a sacar las jaulas, rejas y filtros, los cuales se sacan por el pasillo gris y se llevan al área de lavado dejándose en el lugar destinado.

Se debe de cuidar el fotoperiodo de los animales que debe de ser 12 horas luz/ 12 horas obscuridad conforme lo marca la NOM-067-200-1999, el cual será controlado en forma automática por timer's digitales programados. El agua proporcionada es filtrada y purificada con ozono para evitar que los animales se contaminen con agentes infecciosos, ésta se monitorea cada tres meses y se desinfectan las tuberías cada mes con aumento de la cantidad de ozono durante 15 minutos.

6. Resultados

Los resultados que se obtuvieron a lo largo de la investigación han sido agrupados del lote 1 al 6 del mes de marzo a septiembre de 2024 en donde se contabilizo el numero hembras, machos, producción total y las causas de muerte por aplicación de eutanasia (Figura 1).

En estos seis lotes se obtuvo una producción de 11921 animales, en la cual hubo mayor producción de hembras siendo el 53.15% de la producción total (6337 animales) y un porcentaje de 46.85% machos (5584 animales), presentando una buena producción de animales para ser un sistema intensivo. Se obtuvo también 455 animales que murieron por aplicación de eutanasia lo cual corresponde aun porcentaje de 3.81%, teniendo un porcentaje bajo de eutanasia el cual no muestra valor estadísticamente significativo.

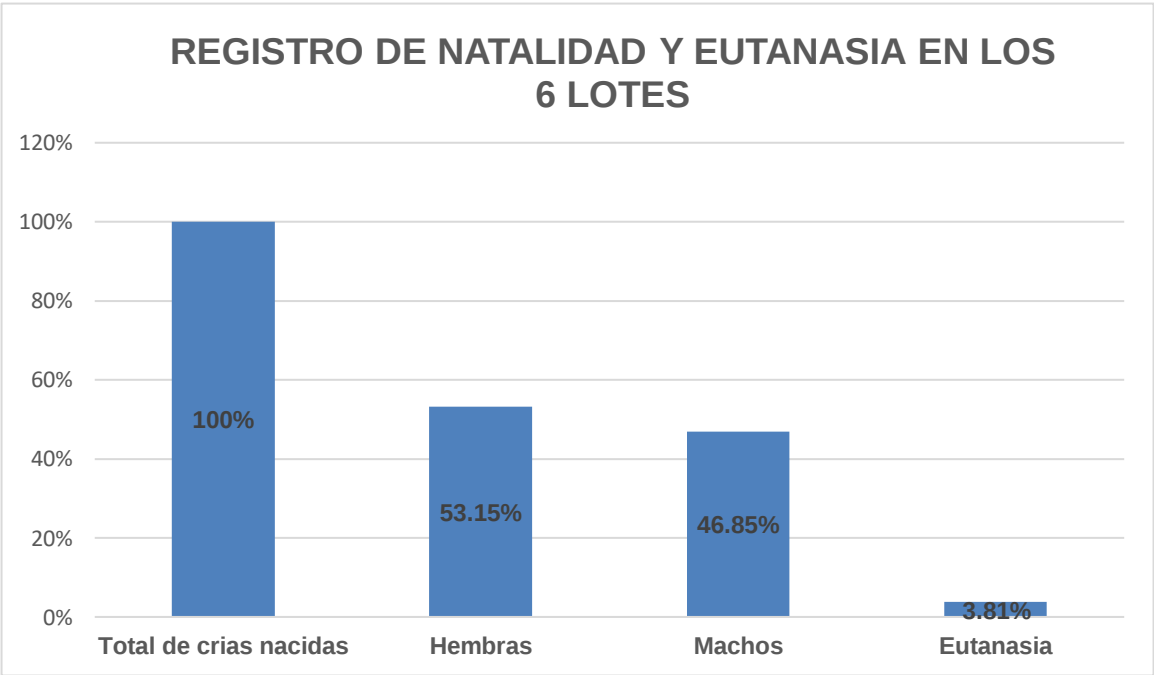


Figura 1: En la gráfica se muestra el registro de natalidad y eutanasia en los 6 lotes, el cual el 100% corresponde a un total de 11921 animales, 5584 machos (53.15%), 6337 hembras (46.85%) y 455 animales que murieron por aplicación de eutanasia (3.81%).

En el lote número 1 se observó el nacimiento de 1996 crías, de las cuales 57.1% son hembras (1139 animales) y el 42.9% machos (857 animales). En tanto que el porcentaje de eutanasia en este lote fue de 4.51% siendo un total de 90 animales. (Figura 2).

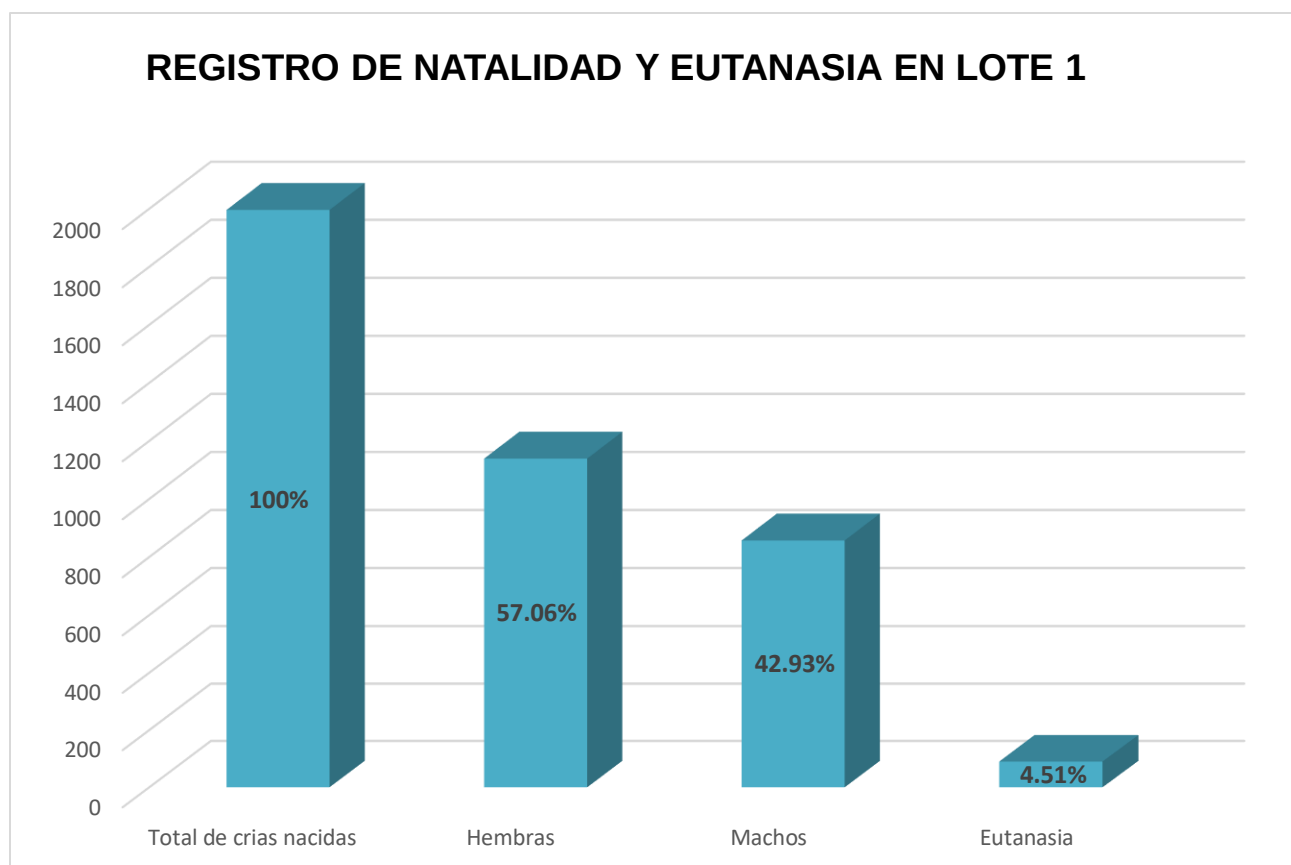


Figura 2: En la gráfica se muestra el registro de natalidad y eutanasia en el lote número 1, siendo mayor el porcentaje de natalidad en las hembras con un porcentaje de 57.06%, y machos con 42.93% y un bajo porcentaje de eutanasia 4.51%

En el lote número 2 se observó el nacimiento de 2002 crías, de las cuales 50.14% son hembras (1004 animales) y el 49.85% machos (998 animales). En tanto que porcentaje de eutanasia en este lote fue de 3.79% siendo un total de 76 animales. (Figura 3).

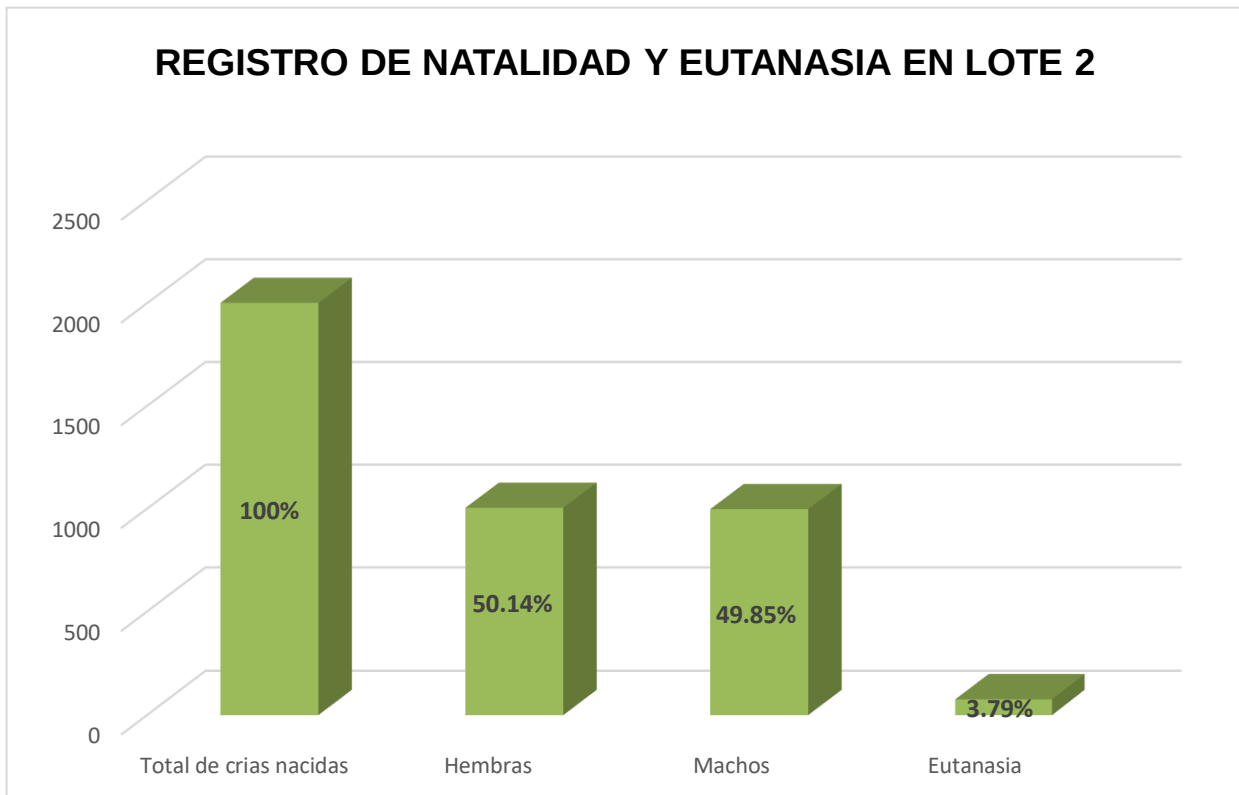


Figura 3: En la gráfica se muestra el registro de natalidad y eutanasia en el lote número 2, siendo mayor el porcentaje de natalidad de hembras con un porcentaje de 50.14%, y los machos con 49.85%, en este lote se obtuvo un porcentaje menor de eutanasia el cual fue de 3.79%.

En el lote número 3 se observó el nacimiento de 1776 crías, de las cuales 55.74% son hembras (990 animales) y el 44.25% machos (786 animales). En tanto que el porcentaje de eutanasia en este lote fue de 4.51% siendo un total 90 animales. (Figura 4).

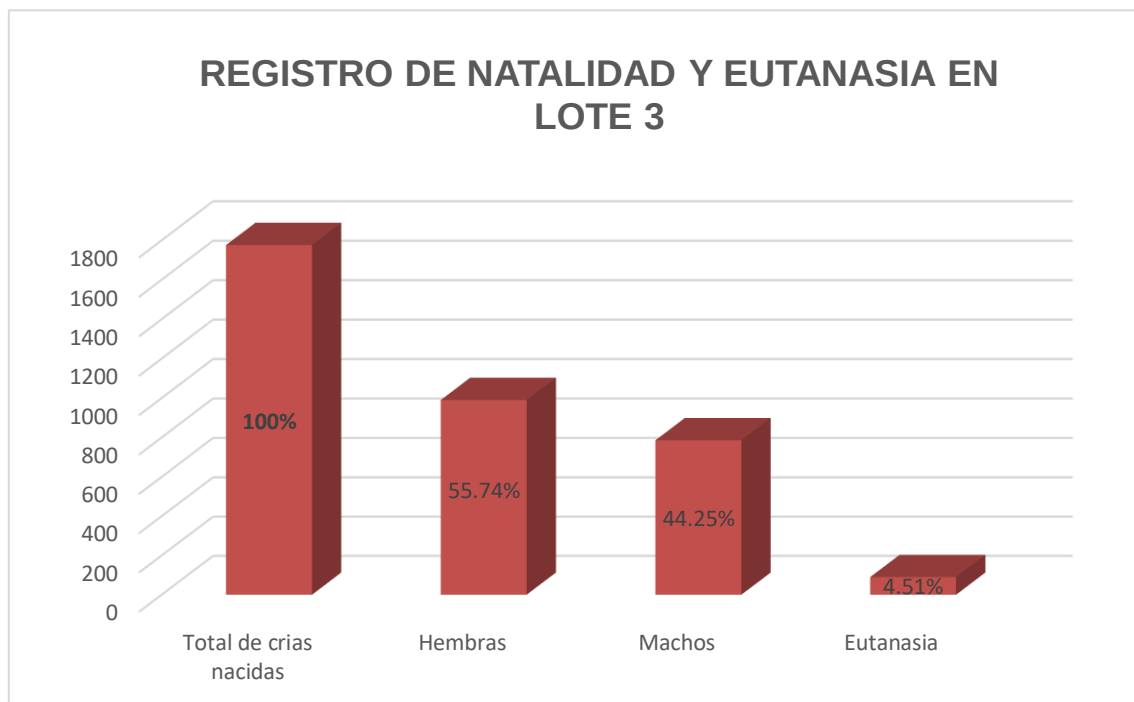


Figura 4: En la gráfica se muestra el registro de natalidad y eutanasia en el lote número 3, siendo mayor el porcentaje de natalidad de hembras con un porcentaje de 55.74% y de machos con un porcentaje de 44.25% y teniendo un porcentaje mínimo de eutanasia de 4.51%,

En el lote número 4 se observó el nacimiento de 1938 crías, de las cuales 48.03% son hembras (931 animales) y el 46.18% machos (895 animales). En tanto que el porcentaje de eutanasia en este lote fue de 4.23% siendo un total 82 animales (Figura 5).

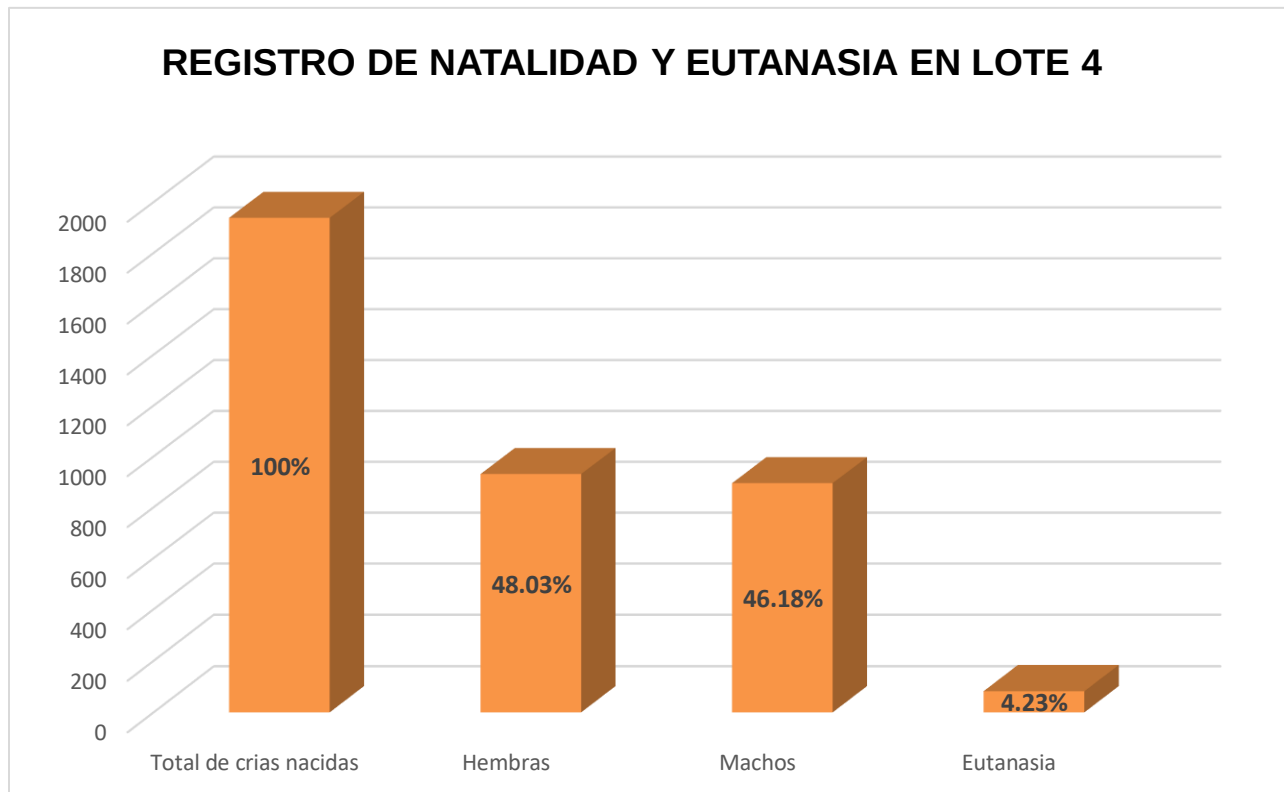


Figura 5: En la gráfica se muestra el registro de natalidad y eutanasia en el lote número 4, siendo mayor el porcentaje de natalidad de hembras 48.03% y el porcentaje de machos de 46.18% en este lote se obtuvo un bajo porcentaje de eutanasia siendo solamente el 4.23%.

En el lote número 5 se observó el nacimiento de 2161 crías, del cual 52.70 % son hembras (1139 animales) y el 47.29 % machos (1022 animales). En tanto que el porcentaje de eutanasia en este lote fue de 3% siendo un total de 65 animales (Figura 6).

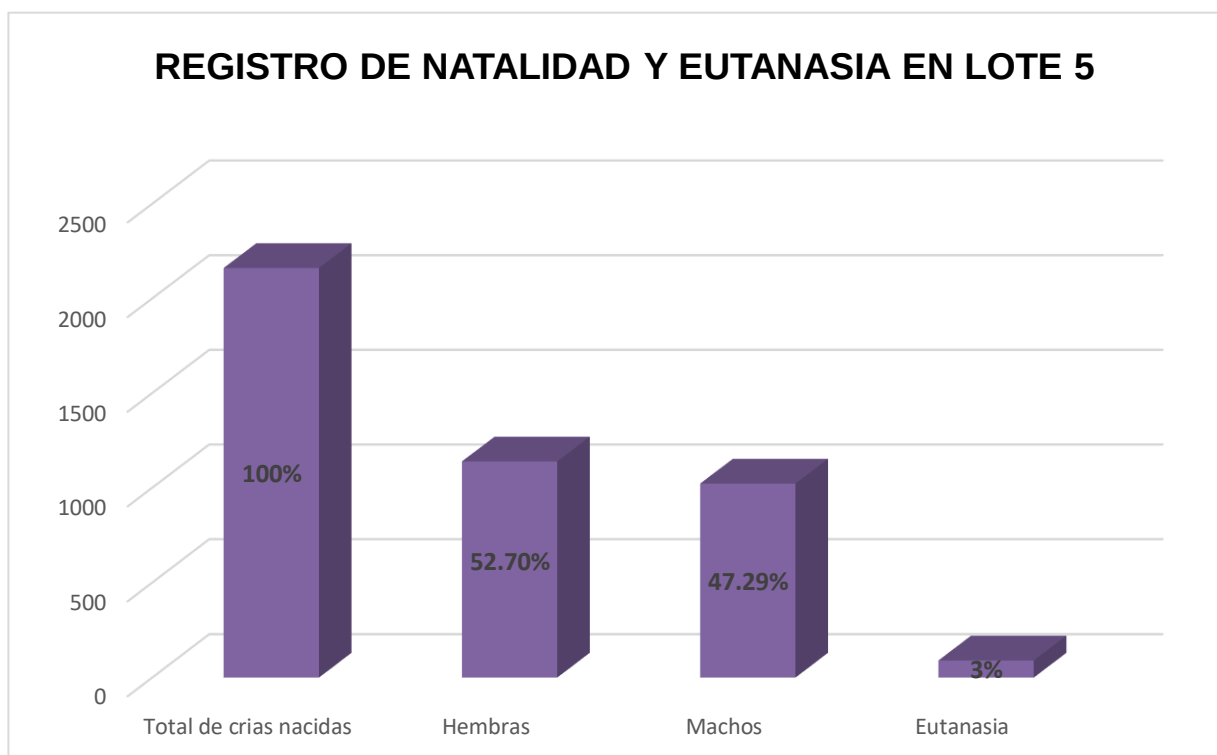


Figura 6: En la gráfica se muestra el registro de natalidad y eutanasia en el lote número 5, siendo mayor el porcentaje de natalidad de hembras con un 52.70% y machos con un 47.29% y un porcentaje bajo de eutanasia siendo el 3%.

En el lote número 6 se observó el nacimiento de 2048 crías, del cual 55.37% son hembras (1134 animales) y el 44.62% machos (914 animales). En tanto que el porcentaje de eutanasia en este lote fue de 2.5% siendo un total 52 animales (Figura 7).

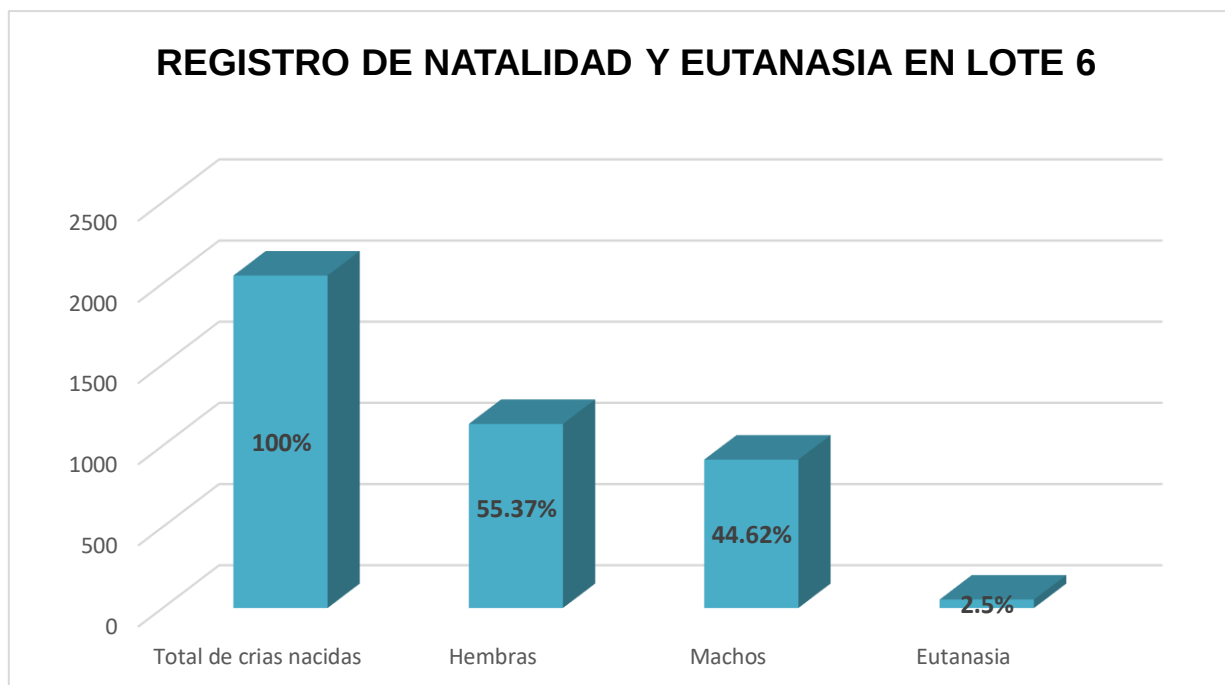


Figura 7: En la gráfica se muestra el registro de natalidad y eutanasia en el lote número 6, siendo mayor el porcentaje de natalidad de hembras 55.37% y un porcentaje de machos de 44.62% y obteniendo un bajo porcentaje de eutanasia 2.5%.

Causas de muerte en los 6 lotes

El número de animales muertos en los 6 lotes fue de 455 animales el cual nos da un porcentaje de 3.81% de la producción total de los 11921 animales que se obtuvieron.

De estos 455 animales que murieron una de las causas fue que presentaron canibalismo con un porcentaje de 2.36% (282 animales), inundación 0.04% (5 animales), se aplicó eutanasia a los animales que presentaron alopecia y se obtuvo un porcentaje de 1.27% (152 animales) y muerte súbita 0.13% (16 animales) (Figura 8).

Todos los porcentajes que se obtuvieron de los animales muertos fueron porcentajes muy bajos y no se encontraron valores significativos o que sean de preocupación para este sistema de producción.

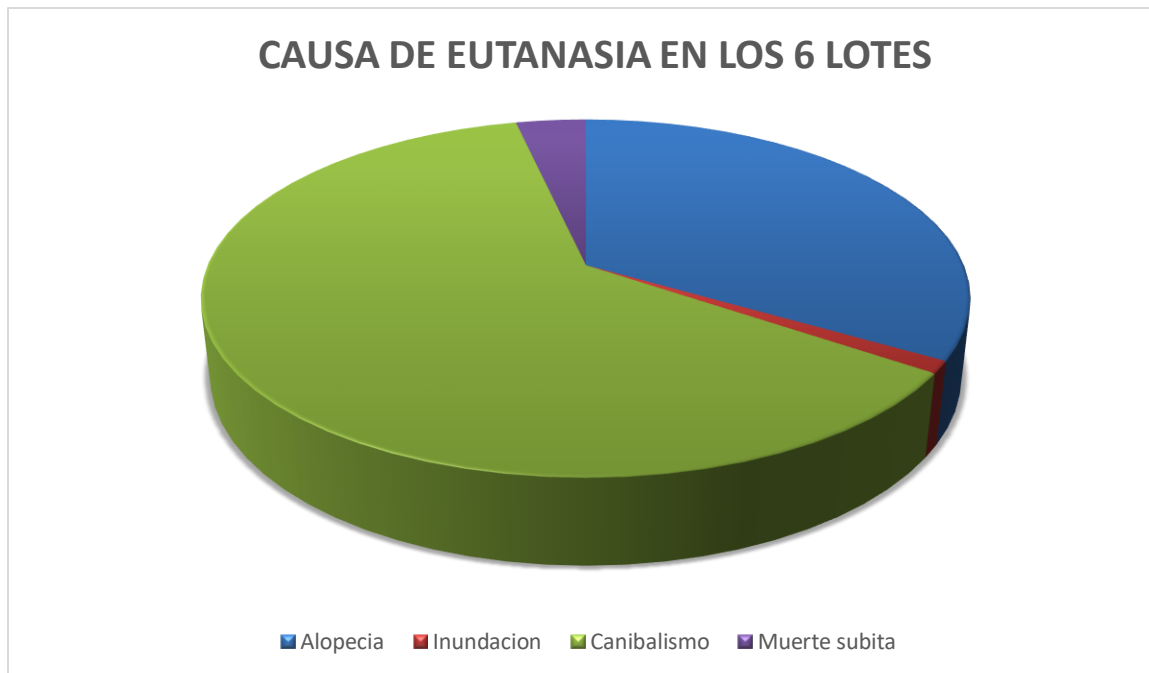


Figura 8: En esta grafica se muestran la causa de eutanasia en los 6 lotes que se estudiaron siendo el canibalismo la principal causa, seguido por alopecia, inundación y muerte súbita.

7. Discusión

Durante la época de lactancia o gestación es normalmente esperado un cambio en el comportamiento de las hembras, tornando a una conducta agresiva, esta conducta se debe biológicamente a que se preparan para enfrentar amenazas y situaciones de peligro, con el único fin de aumentar las probabilidades de supervivencia de sus crías (Nilsson et al., 2024). Debido a esto se podría entender que el canibalismo es una conducta de supervivencia entre hembras, al querer proteger a sus crías de posibles depredadores, esta conducta se comete principalmente por compañeras del mismo nido y en realidad es un fenómeno frecuente entre ratones hembra, (D'Amato et al., 2018). En esta investigación la principal causa de muerte fue canibalismo, de la cual se obtuvo un porcentaje bajo de 2.36% el cual no afecta a la producción de la cepa NIH, pero de cualquier manera sigue siendo una conducta no deseada.

Los ratones disfrutan cavar y forma parte de sus rasgos conductuales, esto se puede considerar como bienestar animal y para poder hacer esto posible, la altura del encamado en la caja debe de ser suficiente para satisfacer las necesidades del animal y dotarles de enriquecimiento ambiental para que formen su nido (Jar, 2016; Heuze I, 2022).

No obstante, que las medidas estandarizadas para mantener a los ratones están aprobadas, el riesgo de inundaciones es inminente, debido a que los bebederos se encuentran a su alcance, y al momento de cavar, es posible que arrojen el encamado hacia la boquilla del bebedero, provocando así que éste se bloquee, o bien atasque el balín, vaciando así su contenido, en esta investigación el porcentaje de animales muertos por inundación fue de 0.04% lo cual no causa preocupación ya que es un porcentaje muy bajo y no todos los lotes cuentan con bebedero automático.

En este estudio, la segunda causa de muerte en los lotes de NIH fue por alopecia, que en realidad no es muerte natural, sino que se le aplica la eutanasia esto con el fin de evitar que en próximos apareos estos defectos genéticos se repliquen en futuras crías, al realizar una revisión de literatura disponible sobre esta condición, se identifican múltiples causas, entre estas, deficiencias en el enriquecimiento ambiental, alteraciones de manejo, estrés, conductas aprendidas, ansiedad y dominancia, así como causas genéticas haciendo que algunas cepas, linajes y modelos genéticamente modificados sean más susceptibles (Hincapie et al., 2022). El porcentaje de muerte por aplicación de eutanasia a animales que presentaron alopecia fue de 1.27% el cual es un porcentaje bajo y no tiene un valor estadísticamente significativo.

Todos los porcentajes que se obtuvieron de mortalidad en esta investigación no muestran preocupación ni relevancia estadística para esta producción y nos habla que se garantiza el bienestar de los animales en la cepa de ratones NIH.

8. Conclusión

UPEAL-BIOTERIO de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, cumple con estrictas normativas éticas y legales que garantizan el bienestar de los animales, promoviendo prácticas responsables en la investigación para la producción y reproducción de la cepa NIH.

Una vez supervisado y analizado el comportamiento de la cepa NIH, es evidente que el canibalismo a pesar de ser una conducta que podría pensarse anormal y no deseada un porcentaje de 2.36% en un total de 11,921 animales destetados no es significativo ya que es una producción intensiva, así como también el porcentaje de 1.27% a animales que presentaron alopecia y murieron por aplicación de eutanasia, y animales muertos por inundación donde se obtuvo un porcentaje de 0.04% y muerte súbita con un porcentaje de 0.13%, estos porcentajes bajos nos hace concluir que los animales de la producción de ratones de cepa NIH se encuentran sanos, libres de estrés y patógenos y cuentan con bienestar animal.

En conclusión, realizar mi servicio social en el UPEAL-BIOTERIO fue una experiencia enriquecedora ya que además de contribuir al avance de la investigación científica, también se fomenta un sentido de responsabilidad hacia el bienestar animal. Esta labor permite adquirir habilidades prácticas y conocimientos valiosos sobre el manejo de animales de laboratorio, además de enfatizar la importancia de seguir normativas éticas y de seguridad, al participar en este entorno, los profesionales y estudiantes podemos hacer una contribución significativa a la ciencia y la salud, realizando prácticas responsables y respetuosas en el cuidado de los seres vivos.

Bibliografía

- ❖ AAALAC. (2017) Guía para el cuidado y uso de los animales de laboratorio. 8ª edic. Edit. Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care International. Washington, USA
- ❖ Benavides F.J. y Guénet J.L. (2003). Manual de Genética de Roedores de Laboratorio Universidad de Alcalá de Henares y la SECAL, España.
- ❖ Benavides, F., & Guénet, J. L. (2020). Manual de Genética de Roedores de Laboratorio: Principios Básicos y Aplicaciones. Sociedad Española para las Ciencias del Animal de Laboratorio (SECAL)
- ❖ Benavides F.J. (2024). Memorias del Congreso ExpoBioterio 2024. Actualización de la nomenclatura estándar en ratas y ratones. Costa Rica. 10 – 13 julio 2024.
- ❖ Danneman, P., Suckow, M., Brayton, C. (2013). “The laboratory Mouse, Second Edition, CRC, Taylor & Francis Group, E.U.A, Pp. 1-5.
- ❖ D’Amato, F., Rizzi, R., Moles, A., (2018). “Aggression and anxiety in pregnant mice are modulated by offspring characteristics”, Animal Behaviour, 72, Pp. 773 – 780.
- ❖ Delgado J., Díaz F. (2018). Consideraciones éticas en el uso de animales de laboratorio en la investigación científica. En National Center for Biotechnology Information (NCBI).
- ❖ Falconi E., Olivero R., García L., Padrón R., Rivas G. y Vargas G. (2017). Manual para el manejo de animales de laboratorio. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. DACB, p.p. 1-6.

- ❖ Fernández, J., Heuze, I. (2007). El Programa interno para el cuidado y uso de los animales de laboratorio en las instalaciones biomédicas docentes, de investigación científica e industria farmacéutica. *Acta Bioética*. Santiago, Chile. 13(1):18
- ❖ Fuentes, F., Mendoza, R., Rosales, A., Cisneros, R. (2008). “Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: Ratón”, Ministerio de Salud, Centro Nacional de Productos Biológicos, Instituto Nacional de Salud, Lima, Perú, Pp. 1-52.
- ❖ Heuze, I. (2023). ABC de los animales de laboratorio. Edit. UAMX.
- ❖ Heuze, I. (2022). Enriquecimiento Ambiental. Congreso internacional ExpoBioterio 2022. Colombia. Noviembre 2022.
- ❖ Hincapié, Juliana A, Correal, María L. (2022). El “barbering”: un problema frecuente en ratones de laboratorio. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 17(2), 64-79.
- ❖ Jar, A. M., (2016) Bienestar animal y el uso de animales de laboratorio en la experimentación científica. *Revista Argentina de Microbiología*, 46(2), 77-79.
- ❖ Lynch C.J. (1969). The so-called swiss mouse. *Laboratory Animal Science*. 19:214-220.
- ❖ Maravall M., Pitas A. (2017). Neuronal coding and integration of temporal patterns in the barrel cortex. Universidad Miguel Hernandez. España.
- ❖ Prescott, T., Mitchinson, B., Grant, R. (2011), “Vibrissal Behaviour and Function”, *Scholarpedia*, 6(10): 6642.
- ❖ Nilsson, Michael K, (2024). Overview of the Reproduction of Laboratory Mice and Rats, Reference Module in Biomedical Sciences, Elsevier.