



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES DE LA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

GUIA TECNICA PARA PRODUCCION DE ROEDORES DE LABORATORIO CON MINIMA CONSANGUINIDAD

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

VERONICA GRAULLERA RIVERA

ASESOR: M.V.Z. EDUARDO TENA BETANCOURT





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

Contenido

	Página
Resumen	1
Introducción	3
Material y Métodos	7
Aspectos Genéticos Básicos	9
Sistema Productivo Propuesto	14
Descripción de los componentes del Sistema	17
Tarjeta de Registro de Desarrollo Reproductivo ..	18
Unidades Reproductoras	19
Tarjeta de Registro de Control de Salidas	20
Libro de Registros	23
Tarjetas de Identificación, para jaulas	23
Procedimientos de Manejo Rutinario	24
Identificación	24
Detección y Aislamiento de Hembras Gestantes ...	25
Registro de Nacimientos	26
Destete	27
Selección de Nuevos Progenitores	28
Análisis de la información	30
Figura 1	32
Figura 2	33
Figura 3	34
Figura 4	35
Figura 5	36

Figura 5	37
Figura 7	38
Cuadro 1	39
Literatura Citada	40

RESUMEN

GRAULLERA RIVERA, VERONICA. Guía técnica para producción de roedores de laboratorio con mínima consanguinidad.

(bajo la dirección de: M.V.Z. Eduardo Tena Betancourt).

Con el objeto de conocer los conceptos genéticos básicos para la producción de roedores de mínima consanguinidad, se llevó a cabo una revisión bibliográfica. Lo anterior permitió establecer un método de apareamiento denominado "Sistema Circular de Pares Monogámicos". Su implementación evita apareamientos entre animales emparentados para de esta forma producir roedores con una variabilidad genética uniforme, evitando incrementos en el coeficiente de consanguinidad generacional no deseables y mantener en consecuencia estables las características genéticas de la colonia. Para el manejo rutinario de la colonia de acuerdo a la bibliografía consultada se adecuaron diversos registros, que incluyen el uso de un esquema de apareamientos, una libreta de registro de animales gestantes y nacimientos, tarjetas de registro de desarrollo reproductivo, así como tarjetas de identificación de jaula. Asimismo fue empleado un sistema individual de identificación animal, mismo que permitió definir con exactitud la identidad de cada reproductor. Finalmente con el manejo apropiado de los registros del sistema propuesto, se favoreció la operación de

la colonia, en donde la eficiencia reproductiva, y la preservación de las características genéticas fueron los aspectos de máxima importancia.

INTRODUCCION

La investigación biomédica ha dependido para su desarrollo del uso de animales de laboratorio poseedores de una definición tanto genética como de su adecuado estado de salud. La contribución de éstos, constituye la base de muchos de los actuales avances de orden científico básico y biomédico (21, 31).

La homogeneidad genética resulta un elemento esencial que favorece la repetibilidad de los experimentos, y es considerada una característica que debe prevalecer en todo estudio en el cual se involucre el uso de animales de laboratorio (9, 26).

Para ciertas especies de mamíferos especialmente el ratón, y en menor grado la rata, el conejo y los cobayos, existe una amplia gama de cepas de animales genéticamente definidos, proveyendo a los investigadores con un material biológico sumamente preciso. El valor de la uniformidad radica en reducir el número de animales que deben usarse en un experimento, o en una prueba. Los animales endogámicos son costosos de producir debido a sus pobres cualidades reproductivas y la ventaja que se gana con la uniformidad genética tiene que sopesarse en contra del costo extra del material requerido (9, 11, 14, 34).

Sin embargo hasta la fecha, aun en países como Inglaterra y los E.E.U.U. una gran parte de los roedores empleados en la investigación biomédica provienen de colonias mantenidas con mínima consanguinidad (11, 13, 14). Lo anterior ocurre, pese a la existencia de una enorme cantidad de publicaciones científicas, enfatizando los méritos relativos de las cepas consanguíneas en los bioensayos (3, 5, 9, 12, 24).

Debido a lo anterior, la cría de animales de laboratorio de mínima consanguinidad, requiere de un método reproductivo sistemático, que deberá ser seguido rigida y consistentemente generación tras generación, permitiendo al técnico la obtención de roedores genéticamente uniformes, que permitan obtener un grado dado de precisión al medir su respuesta media a un experimento o en una prueba, empleando un número reducido de ratones que deberán contar idealmente con las mismas características de manejo y alojamiento, minimizando así también la posible influencia del medio ambiente sobre el individuo y su impacto sobre las variables experimentales (3, 8, 10, 11, 14).

El programa de apareamientos diseñado para mantener colonias de mínima consanguinidad debe contemplar los siguientes lineamientos:

a) Impedir el intercrucamiento, que consiste en evitar

apareamientos entre parientes cercanos con la finalidad de reducir el incremento en el coeficiente de consanguinidad generacional, manteniendo así una variabilidad genética dentro de la colonia. El grado de parentesco entre los individuos en una población cerrada depende del tamaño de ésta, las parejas que se aparean al azar están más estrechamente emparentadas entre sí en una población pequeña que en una población grande por lo que el tamaño de la población inicial también será un factor determinante en el grado de consanguinidad de la colonia (3, 4, 11, 16, 17, 28).

- b) Evitar la formación de sublíneas dentro de la población. Las poblaciones de animales de laboratorio, están frecuentemente subdivididas en un gran número de subpoblaciones. La subdivisión puede presentarse a causa de la reproducción controlada, la población inicial con apareamiento aleatorio es conocida como población base y las subpoblaciones corresponden a las líneas. Todas las líneas constituyen la población total y cada línea es considerada como una "población pequeña" en la cual las frecuencias génicas están sujetas al proceso dispersivo. Para reducir los efectos de éste dentro de la población, deben considerarse los siguientes aspectos:

- 1.-El apareamiento está restringido a miembros de la misma línea con lo que se impide que algún gen pueda pasar de una línea a otra, el intercambio de animales queda

excluido.

- 2.-Las generaciones son distintas y no se sobreponen.
- 3.-El numero de individuos reproductivos en cada línea es el mismo para todas las líneas en todas las generaciones (estos transmiten sus genes a la siguiente generación).
- 4.-Dentro de cada línea el apareamiento es aleatorio.
- 5.-No hay selección en ninguna etapa.
- 6.-No se considera la mutación.

De esta forma todos los individuos reproductivos contribuyen en una misma cantidad a la fuente de gametos de la cual se formarán los cigotes. La unión de los gametos es estrictamente al azar (4, 11, 12, 17, 20, 24, 28).

Finalmente, el objetivo de este trabajo es la elaboración de una Guía Ilustrada, que describa tanto los aspectos genéticos básicos, así como los movimientos de control y rutina requeridos para el mantenimiento de una colonia de roedores de mínima consanguinidad. Lo anterior, con la intención de permitir a los responsables de bioterios el llevar a cabo de una manera sencilla y eficiente, la producción y mantenimiento de roedores de laboratorio indispensables en los programas de investigación, enseñanza y control de calidad de medicamentos.

MATERIAL Y METODOS

Para el desarrollo del presente trabajo fue consultada la literatura científica relacionada con los métodos reproductivos, los sistemas de registros, y los aspectos genéticos que intervienen y tienen un profundo efecto en la dinámica de la perpetuación de una colonia de roedores de mínima consanguinidad (7, 9, 11, 15, 17, 19, 23, 27).

El análisis de la revisión bibliográfica desarrollada, permitió concluir que la elaboración de una Guía Técnica para Producción de Roedores de Laboratorio con Mínima Consanguinidad, resulta una aportación valiosa y útil en el sentido práctico. Por considerar que constituye una herramienta esencial para el técnico, cuyas responsabilidades de trabajo incluyen el manejo de una colonia de roedores.

Los capítulos que consecuentemente serán descritos, incluyen los siguientes rubros:

- 1.- Aspectos genéticos básicos
- 2.- Sistema reproductivo propuesto
- 3.- Descripción de los componentes del sistema
- 4.- Procedimientos de manejo rutinario:
 - a) Identificación

- b) Selección y aislamiento de hembras gestantes
- c) Destetes
- d) Selección de nuevos progenitores

1.- ASPECTOS GENETICOS BASICOS:

El apareamiento al azar ha sido practicado por muchas instituciones, con la intencion deliberada de evitar la homocigosis, manteniendo en consecuencia la variabilidad genetica y prevenir la llamada depresion de la consanguinidad (10, 17).

Dicho sistema de apareamiento, sugiere la necesidad de que los animales elegidos para formar la nueva generacion, no deben poseer parentesco alguno. Sin embargo se tiene que entender que el apareamiento de animales de un mismo grupo denominado "colonia cerrada", sin introduccion de sujetos de fuentes externas, inevitablemente favorece un incremento del coeficiente de consanguinidad generacional. Cualquier par de individuos de la colonia debe estar emparentado entre si a traves de uno o mas ancestros comunes y mientras mas pequeno sea el tamaño de la poblacion en generaciones previas menos remotos seran los ancestros comunes y su número sera mucho mayor. En esta forma, las parejas que se aparean al azar estan mas estrechamente emparentadas entre si en una poblacion pequena que en una poblacion grande (2, 6, 10, 11, 29, 36).

El apareamiento de minima consanguinidad, previene de hecho que el grupo se subdivida en diferentes lineas de

descendencia, en las cuales se incrementaría inevitablemente la consanguinidad generacional. De ahí que la gran mayoría de los autores, enfatizan el hecho de que a menor número de parejas fundadoras mayor será el grado de consanguinidad generacional (11, 12, 16, 23).

Por otro lado en la experiencia de muchos técnicos y científicos, el término "Apareamiento al azar" resulta muy fácil de definir pero difícil de alcanzar. Ello en virtud de que de utilizarse un sistema indiscriminado o no sistemático de apareamiento, se produce inevitablemente un grado incierto de consanguinidad (11, 12, 16).

Se ha sugerido el empleo de tablas con números aleatorios o bien otros sistemas para obtener apareamientos que puedan asegurar que son verdaderamente al azar, sin embargo aún lo anterior no es sencillo de alcanzar (10, 16).

En grandes poblaciones, el apareamiento al azar preservará las frecuencias génicas generación tras generación, en contraste en poblaciones de pequeña proporción, los resultados del mismo tienden a diferir en su frecuencias génicas ligeramente. Inicialmente el número efectivo de animales del grupo de fundación, determinará el grado de fijación o pérdida de alelos en cada locus genético.

El grado de parentesco entre los individuos en una

población depende del tamaño de ésta, y su número inicial corresponde al número efectivo de la colonia. En consecuencia, el apareamiento al azar en poblaciones pequeñas, conducirá más rápido a la homocigosis (con la fijación y pérdida de ciertos alelos) y será más lenta si el número de parejas fundadoras es mayor (10, 11, 16, 19, 23, 27).

Todos los individuos reproductivos contribuyen en una misma cantidad a una fuente de gametos, de la cual se tomarán los cigotes. La unión de los gametos es al azar. De un número potencial de cigotes, sólo un número limitado sobrevive para llegar a ser individuos reproductivos en la siguiente generación y ésta es la etapa en la cual tiene lugar el muestreo de los genes transmitidos por los gametos. La sobrevivencia de los cigotes es al azar y consecuentemente la contribución de los progenitores a la siguiente generación no es uniforme, sino que varía de acuerdo con las oportunidades de sobrevivencia de sus progenies. Puesto que el tamaño de la población es constante de generación a generación, el número promedio de individuos de una progenie que alcanzan edad reproductiva es uno por progenitor individual o dos por pareja de progenitores (4, 5, 6, 10, 11, 15, 26, 27).

El cambio de la frecuencia genica que resulta del muestreo es aleatorio en el sentido de que su dirección no es

predecible, pero su magnitud puede predecirse en terminos de la varianza del cambio resultante del proceso dispersivo (11, 12, 23, 26).

El proceso dispersivo, expresa el cambio esperado en cualquier linea o la varianza de las frecuencias génicas que se encontrarían entre muchas lineas después de una generacion. Su efecto es una dispersion de las frecuencias génicas entre las lineas, éstas llegan a diferenciarse en frecuencia génica aunque la media de la poblacion total permanece invariable. En la siguiente generacion el proceso del muestreo se repite, pero cada linea comienza ahora con una frecuencia génica diferente y en esta forma el segundo muestreo conduce a una nueva dispersion (11, 12).

Existen limites para el separamiento de las lineas que se producen por el proceso dispersivo. La frecuencia génica no puede cambiar más allá de los limites de 0 o 1 y tarde o temprano, cada linea debe alcanzar uno u otro de estos limites, una vez que la frecuencia génica ha alcanzado el valor de 0 o 1 no puede cambiar más en esa linea. Cuando un alelo particular ha alcanzado una frecuencia de 1 se dice que ha sido "fijado" en esa linea y cuando alcanza la frecuencia de 0, se dice que ha sido "perdido". Cuando un alelo alcanza la fijacion, ningun otro alelo puede estar en esa linea y puede decirse entonces que la linea ha sido fijada.

Cuando una línea ha sido fijada, todos los individuos de ella son de genotipo idéntico con respecto a ese locus. A la larga todas las líneas y todos los loci en una línea llegan a fijarse. Los individuos de una línea entonces son genéticamente idénticos y ésta es la base de la uniformidad genética de estirpes altamente endogámicas (11, 16, 18, 23, 27).

Cuando estamos interesados en la obtención de uniformidad genética se debe considerar que la fijación no comienza inmediatamente, la dispersión de las frecuencias génicas debe proceder en alguna forma antes de que sea probable que cualquier línea alcance la fijación. Existen dos fases en el proceso dispersivo: durante la fase inicial, las frecuencias génicas comienzan a separarse del valor inicial; ésta conduce a la fase "constante", cuando las frecuencias génicas se extienden uniformemente sobre el rango entre los dos límites y todas las frecuencias génicas excepto los dos límites son igualmente probables (11, 18, 23).

Estos cambios que surgen del apareamiento de una población pequeña, han sido llamados efecto de la consanguinidad, desviación al azar o efecto de cierre (11, 15, 22, 26).

2.- SISTEMA REPRODUCTIVO: FORMA DE LLEVAR A CABO LOS APAREAMIENTOS Y SU CONTROL.

Poiley (27) describió un sistema rotacional de reproductores no consanguíneos, con la finalidad de minimizar los niveles de consanguinidad generacional, mismo que en la actualidad es considerado obsoleto debido a que permite la formación de sublíneas (11, 28).

El Sistema Circular de Pares Monogámicos que se pretende describir como Guía Técnica en este trabajo, se seleccionó por varios motivos. Los más relevantes sugieren que la implementación de este sistema en colonias cerradas, es indispensable para estabilizar la frecuencia genica y minimizar el nivel de consanguinidad generacional (10, 14, 28). Bajo este sistema reproductivo controlado, la tasa de endogamia es la más baja posible con un número dado de individuos reproductivos. Una práctica común es evitar deliberadamente los apareamientos entre hermanos y escoger pares de progenitores que tengan el mínimo parentesco posible entre ellos. La eliminación deliberada de la endogamia en esta forma, tiene como efecto distribuir a los individuos elegidos para ser progenitores más uniformemente entre todas las familias disponibles (8, 13, 15, 25, 27).

Lo anterior debido a que dicho sistema define claramente los siguientes lineamientos:

- a) Cada pareja de apareamiento, solo deberá contribuir con un macho y una hembra de sus camadas para formar una nueva unidad reproductora en la siguiente generación. Cada individuo reproductivo contribuye en forma igual a la fuente de gametos y por lo tanto, contribuye también a la formación de cigotes potenciales en la generación siguiente, la sobrevivencia de los cigotes es al azar. Este procedimiento deberá seguirse generación tras generación en forma inalterable.
- b) No se deberá practicar ninguna selección deliberada, incluyendo aquella inherente al desarrollo reproductivo. El apareamiento al azar en ausencia de selección mantendrá la frecuencia génica constante y las características cuantitativas (poligénicas) en proporciones estables.
- c) Los intervalos generacionales son un aspecto importante en colonias no consanguíneas. En el sistema de mínima consanguinidad estos son extendidos al máximo, por medio de un patrón de reproducción bien definido, el cual tiene como principal objetivo minimizar los niveles de consanguinidad, por tal motivo cada unidad reproductora deberá ser reemplazada únicamente al finalizar su ciclo

reproductivo o bien en caso de fallecimiento, caribalismo o enfermedad.

- d) La progenie de reemplazo para procrear la siguiente generación, será apareada estrictamente acorde al plan diseñado para el efecto. la colonia siempre deberá ser organizada en unidades reproductoras (UR). Debido al riesgo de inducir mayores niveles de consanguinidad, el intercambio de camadas queda totalmente prohibido (2, 4, 11, 12, 13, 15, 24, 28).

3.- DESCRIPCIÓN DE LOS COMPONENTES DEL SISTEMA.

Los sistemas de registro consisten en tarjetas de control diseñadas de acuerdo a la utilización de la especie animal de que se trate. En el caso de los roedores de laboratorio, su objetivo básico es el de obtener y proveer información acerca de los apareamientos, nacimientos, número de camadas producidas, localización de unidades reproductoras así como información auxiliar utilizada en el manejo rutinario de las colonias (23, 28). Los componentes indispensables para el manejo y desarrollo de las colonias de producción, incluyeron los siguientes controles:

- 3.1 Tarjeta de registro de desarrollo reproductivo
- 3.2 Unidades Reproductoras
- 3.3 Tarjeta de registro de control de salidas
- 3.4 Libro de registros:
 - a) Hembras gestantes
 - b) Nacimientos
- 3.5 Tarjetas de identificación para jaulas

3.1 TARJETA DE REGISTRO DE DESARROLLO REPRODUCTIVO.

Las tarjetas de registro de desarrollo reproductivo están diseñadas a fin de cubrir la información necesaria para el técnico, y tener un manejo adecuado de la colonia de roedores en donde son empleadas. El anverso de la misma se usa para el registro del desarrollo reproductivo de la hembra, mismo que incluye el número de identificación de esta, el total de camadas producidas, generación (que se utiliza en el caso de colonias consanguíneas), fechas de nacimiento de cada camada, número de animales nacidos, número de muertos o sacrificados, fecha de destete, número y sexo de animales destetados así como el peso de la camada.

Adicionalmente la parte inferior derecha, se emplea para registrar información inherente a la genealogía de la hembra, incluyéndose en ésta la cepa, generación, fecha de nacimiento, número de los padres, fecha de defunción y observaciones tales como la causa de muerte reproductiva, el lugar de procedencia de la cepa, o si se lleva Libro mayor utilizado en cepas consanguíneas). La identificación individual del macho y el número de la unidad reproductiva respectiva, son registrados en el espacio inferior izquierdo del anverso de la tarjeta, al igual que la fecha de apareamiento. (Figura 10).

La parte posterior de la misma incluye la siguiente información: de derecha a izquierda, registra la fecha de separación de la hembra gestante; a continuación la fecha de reingreso de la hembra a su unidad reproductora correspondiente (al realizar el destete), en donde será nuevamente apareada y el número de la jaula de parto en que ingresará la hembra al ser detectada gestante nuevamente (cuando se maneja el sistema poligámico de reproducción). Dichas tarjetas de registro deberán estar colocadas en un tarjetero con separadores para la identificación de cada unidad reproductora y de las jaulas de parto.

Finalmente tanto las unidades reproductoras como las jaulas de parto deberán estar en orden progresivo ascendente, los datos que proporcionan los registros permiten obtener en forma sencilla y rápida la información de cualquier animal de la colonia en un momento dado (18, 27). (Figura 2)

3.2 UNIDADES REPRODUCTORAS.

Las Unidades Reproductoras pueden estar conformadas de dos formas dependiendo del sistema reproductivo empleado:

- a) Sistema monogámico o de fundación: Este sistema mantiene unidades reproductivas con una relación de un macho con una hembra.

- b) Sistema poligámico o de expansión: En este caso las unidades reproductivas son conformadas con una relación de un macho con 4-6 hembras. este último sistema se emplea cuando las necesidades de reproducción son altas y no se cuenta con la cantidad de material y/o espacio necesario que permita manejar la colonia bajo un sistema de apareamiento monogámico exclusivamente.

Los reproductores según las normas establecidas, no deberán tener parentesco alguno. Dichos animales serán identificados en forma individual y cada unidad reproductiva deberá ser provista con una tarjeta de desarrollo reproductivo (3, 5, 10, 31). (Fig. 1)

3.3 TARJETA DE REGISTRO DE CONTROL DE SALIDAS.

Se deberá elaborar una tarjeta de registro de control de salidas por cada unidad reproductora (3.2). Esta llevará anotada la cepa, fecha de nacimiento del macho y su número de identificación. Adicionalmente, es registrado el número de la hembra con la que es apareado, que corresponde al número de la unidad reproductiva a la que pertenecen en el caso de que se trate del sistema de apareamiento monogámico, o bien los números progresivos de las hembras con las que es

apareado el macho cuando es empleado el sistema de apareamiento poligámico.

En el caso de roedores de laboratorio, los sexos estan frecuentemente representados entre los individuos reproductivos en una forma desigual, puesto que es más económico cuando esto es posible, usar menos machos que hembras (6. 9. 11. 30).

Cuando se emplea el sistema monogámico o de fundación, se eleva la cantidad de material necesario, aumenta el espacio requerido para reproducción así como la cantidad de personal necesario para el manejo de los roedores, lo que provoca un alza en el costo de producción de estas colonias. Por lo anterior se recomienda manejar ambos sistemas de reproducción en conjunto, empleando la misma cepa de roedores en ambos casos. Cuando es empleado el sistema monogámico o de fundación, la hembra es identificada con el número de la unidad reproductora en la que va a ser apareada. En el caso del sistema poligámico o de expansión, las hembras son identificadas con el número progresivo que les corresponda, considerando el número de la unidad reproductora a la que van a pertenecer. Es, en el caso de la UR 1 las hembras tendrán una numeración del 1 al 5, en la UR 2 les corresponderá la numeración del 6 al 10 y así sucesivamente; en ambos casos se emplea una tarjeta de registro de control de salidas por UR independientemente del número de hembras que conformen la UR.

(3. 9. 22).

En el proceso de manejo se registran las fechas de revisión de las unidades reproductoras, que indican la presencia de cada una de las hembras en su jaula correspondiente. Asimismo éste cuenta con un espacio al lado del nombre individual de cada hembra, para anotar la jaula de parto a la que es separada. Esto último para poder localizar rápidamente a las mismas. (Figura 3)

El total de camadas por cada hembra reproductora varía según el sistema reproductivo empleado. Se ha informado que una hembra podrá tener un máximo de 8-10 camadas si así se deseara, con la desventaja de que después de la quinta camada, tanto su prolificidad como el tamaño de sus crías disminuirán drásticamente (3. 6. 22).

Una unidad reproductora será dada de baja total o parcialmente solo en casos de enfermedad, canibalismo, vejez e impeductividad (22. 22).

3.4 LIBRO DE REGISTROS:

a) HEMERAS GESTANTES

b) NACIMIENTOS

El movimiento rutinario de dichas colonias, se encuentra basado en los registros semanarios de detección de animales gestantes y la anotación diaria de nacimientos (fecha, número de la jaula, total de nacimientos, decesos y sacrificios) (3). (Figura 4)

3.5 TARJETAS DE IDENTIFICACION PARA JAULAS.

Estas son elaboradas al destetarse una nueva camada, y constan de la siguiente información:

En la parte anterior izquierda se localiza la cepa del animal, a la derecha el sexo de este, inmediatamente abajo de estos datos se encuentra un espacio para anotar el número progresivo de la cría destetada; al lado izquierdo de la tarjeta, de la mitad hacia la derecha existe otro espacio en el que se anota la fecha de nacimiento de dichas crías y en la parte inferior, se provee un espacio en el que se anotan las observaciones pertinentes a cada caso. Esta tarjeta siempre deberá ser colocada al frente de su respectiva jaula (3). (Figura 5)

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

4 - PROCEDIMIENTOS DE MANEJO RUTINARIO:

- a) IDENTIFICACION
- b) DETECCION Y AISLAMIENTO DE HEMBRAS GESTANTES
- c) DESTETE
- d) ELECCION DE NUEVOS PROGENITORES

a) IDENTIFICACION.

Para poder llevar a cabo una adecuada identificación individual de la colonia de roedores, se utiliza el sistema de marcaje por muescas en las orejas. Este sistema asigna un valor a cada una de estas muescas, tanto en la oreja derecha como en la izquierda, lo que permite conocer el número exacto del animal en cuestión y así poder llevar en forma eficiente y segura la localización física del roedor así como de su registro de desarrollo reproductivo y de las tarjetas de control de salidas. (Figura 6)

Para efectos de marcaje, es indispensable el contar con un "muescador" que permita perforar con rapidez y facilidad el cartilago, sin traumatizar en demasia al roedor (éste también es llamado perforador de membrana, o del inglés "ear punch device" (22)). (Figura 7)

8) DETECCION Y AISLAMIENTO DE HEMBRAS GESTANTES.

Este movimiento se lleva a cabo una o dos veces a la semana. Para realizarlo son revisadas individualmente las tarjetas de registro de desarrollo reproductivo, de cada una de las unidades reproductoras, mismas que tienen registrado en el reverso las fechas de reingreso de las hembras reproductoras a sus respectivas unidades, posterior al destete y por lo tanto posiblemente apareadas en los siguientes 4-6 días. Una vez llevada a cabo la revisión e identificación de hembras gestantes, se procede a localizar su tarjeta de registro individual de desarrollo reproductivo, mismo que se encuentra en un tarjetero en donde están dispuestas las unidades reproductoras correspondientes, y las tarjetas de registro de control de salidas. En ambas es anotado el número de la hembra gestante así como el número de la jaula de parto asignada. Para facilitar la revisión rutinaria de nacimientos y destetes, es empleado un libro de registros en el cual son anotados también los movimientos anteriormente descritos, como la fecha de salida, el número de la jaula de parto, fecha de nacimiento y destete, así como el número de crías nacidas, muertas o sacrificadas (5).

(Fig. 4)

c) REGISTRO DE NACIMIENTOS.

El registro de nacimientos es llevado a cabo en forma diaria, anotando la fecha y las jaulas de parto en las que se registraron los nacimientos. Dicho movimiento facilita el conocer la edad real de los animales, y de esta forma se puede llevar a cabo un control mas preciso de los roedores.

Los datos son anotados en el libro de registros, tachando con una "X" el número de la jaula de parto en donde ocurrió el nacimiento.

Los nacimientos se anotan por fechas en el libro de registros, separando tanto el número de la jaula de parto como el número de crías nacidas con un guión, así como el número de animales sacrificados ("s") o muertos.

En camadas numerosas, se recomienda dejar de 8-10 crías con la madre para obtener un desarrollo óptimo y sacrificar el excedente. Esto, teniendo cuidado de escoger para ello a los animales inferiores en tamaño o peso, con deformidades físicas aparentes o bien desnutridos. Cuando la camada es menor de 5 crías, deberá ser sacrificada por considerarse que no es costeable mantener una camada pequeña, y la hembra es devuelta a su unidad reproductora para ser apareada nuevamente por el macho, realizando las anotaciones

necesarias en la tarjeta de registro de desarrollo reproductivo y de control de salidas (P. 10, 12). (Fig. 4)

c) DESTETE

El destete es llevado a cabo entre los 21-25 días de edad (5, 19) y es efectuado mediante la localización de la jaula de parto por medio del libro de registros, y de la tarjeta de registro de desarrollo reproductivo de la hembra a destetar. Una vez localizada se lleva a cabo el destete, anotando en el lado derecho del libro de registros, el número de animales destetados, encerrándolos en un círculo y colocando una línea a todo lo largo de la información de la jaula de parto y de las crías nacidas para definir que esa jaula ya ha sido destetada. Acto seguido, también es anotado en la tarjeta de registro de desarrollo reproductivo el total de animales destetados, la fecha de destete, el número de crías hembras y machos, así como aquellos animales muertos durante el periodo de lactación; también es posible anotar cuando es necesario por algún procedimiento experimental o de prueba en el que va a ser empleado determinado(s) roedor, el peso de la camela tanto al nacimiento como al destete. Posteriormente, en la tarjeta de registro de control de salidas es tachado el número de la jaula de parto en la que se encontraba esta hembra y en el espacio para revisión de

dicho registro. (una vez que se verifican todas las hembras correspondientes a la unidad reproductora), se anota la fecha de revisión regresando estas al tarjetero correspondiente (8. 30). (Figs. 1, 3 y 4)

d) ELECCION DE NUEVOS PROGENITORES.

La elección de los nuevos reproductores deberá ser desarrollada en forma escrupulosa al ser realizado el destete, separando a un macho y una hembra de la última camada producida por la UR que va a ser reemplazada, y anotando adicionalmente en la tarjeta de identificación de jaula en el espacio de observaciones el número de UR a la que pertenece el roedor elegido, con la finalidad de que estos animales de reemplazo transmitan a su descendencia las mismas características genéticas, para perpetuar la cepa y poder brindar al investigador, con animales de alta calidad y uniformidad genética (3, 10, 11). (Fig. 5)

El procedimiento de elección requiere como factor indispensable, el poseer registros que permitan llevar a cabo el reemplazo oportuno de los reproductores, mediante un sistema de reproducción sistemático que en este caso es el Sistema Circular de Pares Monogámicos. Dicho programa estará conformado de acuerdo a los requerimientos

existentes, para mantener uniformes los niveles de consanguinidad dentro de la colonia, y este se basará en la fundación de Unidades Reproductoras (UR) de las que serán elegidos los animales de reemplazo, idealmente cuando se considere que la UR está próxima a completar su ciclo reproductivo ya sea por edad avanzada o bien enfermedad (3).

En el Sistema Circular de Pares Minogámicos los descendientes machos permanecen en la misma familia, y son las hembras las que se desplazan al siguiente lote (a su derecha) para conformar una nueva UR, acorde al programa diseñado al efecto. Todo ello, considerando que cada pareja contribuye tan solo con un animal de cada sexo para configurar la siguiente generación, mismo que no es objeto de ningún tipo de selección (11, 28). (Cuadro 1)

Al realizar el destete los animales que serán utilizados como reemplazos una vez seleccionados, deberán ser identificados de forma individual y separados de los animales que serán empleados en procesos experimentales, con la finalidad de evitar que puedan ser confundidos, extraviados o introducidos a una UR que no les corresponda. Esto último evitará apareamientos equivocados y en consecuencia, aumentos o disminuciones indeseables de la consanguinidad (1, 8, 22). (Fig. 6)

ANALISIS DE LA INFORMACION

El presente trabajo constituye una aportación, tanto desde el punto de vista de la información genética básica que proporciona, como por constituir un elemento de uso práctico en la perpetuación de colonias reproductivas de roedores con mínima consanguinidad.

El Sistema Circular de Pares Monogámicos descrito, ha sido utilizado rutinariamente en el manejo y control de las colonias de roedores (ratones y ratas) mantenidos en el Bioterio de la Jefatura de Control de Calidad del I.M.S.S. desde 1982, obteniendo a la fecha colonias con uniformidad fenotípica, sin presentación de mutaciones (como cola doblada, cola corta o hernia escrotal), con índice de fertilidad del 95% en promedio y con virtual ausencia de canibalismo.

Asimismo se describen los componentes que conforman el Sistema de reproducción utilizado, con una descripción de los movimientos generales que intervienen en el mismo para la mantención y propagación de dichas colonias.

Por último la práctica operacional del sistema reseñado, permite la reproducción eficiente de roedores para laboratorio genéticamente uniformes, aspecto de gran

importancia en la actualidad dentro de la investigación
biomédica (7, 10, 12, 18, 28).



TARJETA DE DESARROLLO REPRODUCTIVO DE ROEDORES

NO DE LA HEMBRA

09

N.º de camada	Generación	No en la lactia	Fecha de nacimientos	Nacimientos			Sexos				Peso inicial de la camada	
				Total	Muertos al nacer	Muertos en la lactancia	Total	♀	♂	Al nacimiento	Al destete	
1	—	—	30-X-90	10	3a	0	7	23090	2	5	—	—
2	—	—	19-III-90	15	6a	1	8	15191	4	4	—	—
3	—	—	6-III-91	11	3a	0	8	58191	3	5	—	—
4	—	—	23-III-91	11	2a-1a	0	8	23191	6	2	—	—
5												
6												
7												

Apareada por 22 (27/III/90)

PEDIGREE

Eraza NIH

Generación —

Fecha de nacimiento 9 VII 90

No. de la madre 41

No. del padre 5

Fecha de defunción

Observaciones Sin datos de Lactia Nueva

Unidad Reproductora

22

Figura 1. TARJETA DE REGISTRO DE DESARROLLO REPRODUCTIVO
 (anverso)

Consultar página num. 18

- Esta tarjeta está diseñada para el manejo de colonias consanguíneas y colonias de mínima consanguinidad, debido a que la mayoría de bioterios carecen de recursos económicos para la elaboración de tarjetas específicas para cada colonia, por lo que hay columnas que no son empleadas en el manejo del Sistema Circular de Pares Monogámicos.

No. DE LA MEMBRA

09

Observaciones	Programa		
	Separación a plus "m" No.	Fecha de ingreso de la ♀ a la U.R.	Fecha de separación de la ♀ gestante
		23 IV 91	
	55	5 III 91	22 III 91
	58	15 I 91	31 I 91
	97	28 XI 90	13 XII 90
	40	6 X 90	25 X 90

Figure 2. TARJETA DE REGISTRO DE DESARROLLO REPRODUCTIVO

(reverso)

Consultar página num. 18



IMSS

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
JEFATURA DE CONTROL DE CALIDAD

BIOTERIO

CONTROL DE SALIDA DE ROEDORES

Cepe	NIH	Fecha de nacimiento:	1º VII 90	U.R.	22
------	-----	----------------------	-----------	------	----

♀	06	XX XX XX XX
	08	XX XX XX XX
	08	XX XX XX
	09	XX XX XX XX
	10	XX XX XX XX 49

♂	22 (21-XII-90) de UR 5
---	------------------------

Revisión	6 X 90 / 22 XI 90 / 31 I 91 / 14 II 91 / 5 III 91 / 7 III 91 / 18 IV 91
----------	---

Observaciones	
---------------	--

FBT-2

Figura 3. REGISTRO DE CONTROL DE SALIDAS

Consultar página num. 20

En este registro se anota el número progresivo de los animales: a la derecha de ésta se anota la jaula de parto donde se encuentra la hembra, al término de la lactancia se cruza con una "X" y la hembra se regresa a su UR.

RATONES NIH		♀ E
Identificación	Fecha de nacimiento	
32 301	26-III-91	
302		
303		
304		
305		

Observaciones _____

FBI-5

RATONES NIH		♂ E
Identificación	Fecha de nacimiento	
32 001	26-III-91	
002		
003		
004		
005		

Observaciones Pro: 14.5-16.5

FBI-4

Figura 5. TARJETAS DE IDENTIFICACION DE JAULAS

Consultar página núm. 23

En estas tarjetas se anota la fecha de nacimiento y el número progresivo de los animales.

CODIGO DE MARCAJE DE ROEDORES



Figura 6. CODIGO DE MARCAJE DE ROEDORES

Consultar página num. 24

Valor de las muescas utilizadas en el Bioterrio de la Jefatura de Control de Calidad I.M.D.F., para el marcaje de sus colonias de roedores.



Figura 7. MUESCADOR. PERFORADOR DE MEMBRANA O EAR PUNCH
DEVICE.

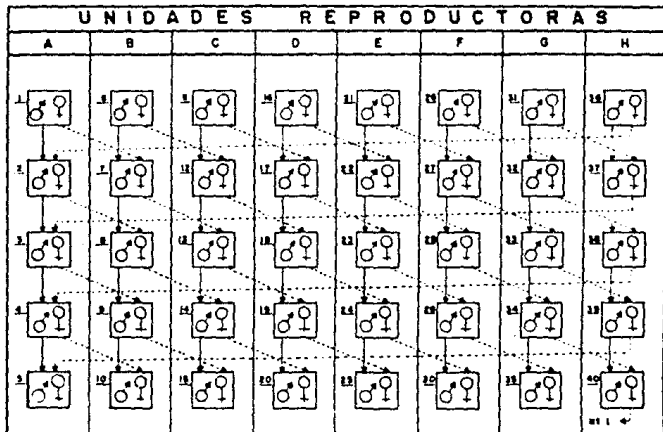
Consultar pagina núm. 24.

ESQUEMA DE APAREAMIENTO DEL SISTEMA CIRCULAR DE PARES MONOGAMICOS



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
 DIRECCION GENERAL DE ABASTECIMIENTO

BIOTERIO
 SISTEMA CIRCULAR DE PARES MONOGAMICOS
 ESQUEMA DE APAREAMIENTO



Consultar pagina num. 28

La colonia se organiza en familias que pueden ser designadas por letras, numeros romanos o colores para su identificación, con un num. determinado de UR (que debe ser el mismo por familia) y se les da un numero convencional. Las UR se aparean en forma circular, de izquierda a derecha, pasando a las hembras a la sig. familia a su derecha, los machos permanecen en la misma familia. Este movimiento se realiza solo cuando la UR va a ser reemplazada al terminar su ciclo reproductivo.

LITERATURA CITADA

- 1.- Anonimous: Handbook on Genetically Standardized Jax Mice.

3th. Edited by: The Staff of The Jackson Laboratory, Bar Harbor Maine. (1982).

- 2.- Anonimous: Syllabus for the Laboratory Animal Technologist. The Committee on Laboratory Animal Technician Education of the Chicago Branch. American Association for Laboratory Animal Science, 3: 239-254 (1972).

- 3.- Bennett, J. P. and Vickery, B. H.: Rats and mice. In: Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals. Edited by: Hafez, E.S.E., 299-315. Lea and Febiger, Philadelphia, 1970.

- 4.- Bowman, J. C. and Falconer, D. S.: Inbreeding depression and heterosis of litter size in mice. Genet. Res. 1: 262-274 (1960).

- 5.- Brenson, F. H.; Dagg, Ch. P. and Snell, G. D.: Reproduction In: The Biology of Laboratory Mouse. Edited by: The Staff Jackson Laboratory. 187-204. Mc Graw-Hill, New York. 1966.

- 6.- Cox, D. F., Legates, J. E. and Cockerman, C. C.: Maternal influence of body weight. J. Anim. Sci. 18: 519-527 (1959).
- 7.- Chai, C. K.: Effect of inbreeding in rabbits. Inbred lines discrete characters, breeding performance, and mortality. J. Hered. 60: 64-70 (1970).
- 8.- DHEN Publication (NIH): Catalogue of NIH Rodents, Strain and Stocks of Rodents and Rabbits provided by the NIH Laboratory Animal Genetic Center. Edited by: National Institutes of Health, 74-606. Bethesda, Maryland 20014. 1974.
- 9.- Dickie, M. M.: Keeping records. In: The Biology of the Laboratory Mouse. Edited by: The Staff of the Jackson Laboratory, 23-28. Mc. Graw-Hill, New York, 1966.
- 10.-Falconer, D. S.: Genetic aspect of breeding methods. In: The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals. 4th ed. 5-25. Edited by: E. and S. Churchill-Livingstone, Edinburg, 1972.
- 11.-Falconer, D. S.: Introduction to Quantitative Genetics. Department of Genetics University of Edinburg. 3th ed. 51-84. Edited by: Longman Scientific & Technical, London.

1989.

12.-Festing, M. F. W.: Production methods. In: The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals. 4th ed. 56-72. Edited by: E. and S. Churchill-Livingstone. London. 1972.

13.-Festing, M. F. W.: Properties of inbred strains and outbred stocks, with special reference to toxicity testing. J. Tox. Env. Health. 5: 53-68 (1979).

14.-Festing, M. F. W.: International Index of Laboratory Animals. 4th ed. M. R. C. Laboratory Animals Centre, Cambridge, U.K. 1980.

15.-Festing, M. F. W.: Phenotypic variability of inbred and outbred mice. Nature, 263: 230-232 (1980).

16.-Festing, M. F. W.: Genetic contamination of laboratory animal colonies: an increasingly serious problem. ILAR News, 25: 6-9 (1982).

17.-Green, E. L.: Breeding system. In: The Laboratory Mouse. Edited by: The Staff of the Jackson Laboratory. 11-22. Mc Graw Hill. New York. 1966.

18.-Guill, J. T.: The use of randomly bred and genetically defined animals in biomedical research. Ann. J.

- Fath 111: 21-32 (1980).
- 19.-Harkness, J. E. and Wagner, J. E.: The mouse. In: The Biology and Medicine of Rabbits and Rodents. Edited by: Lea and Febiger. 29-34. Philadelphia 1977.
- 20.-Hume, C. W.: The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals, 4th Edited by: E. and S. Churchill-Livingstone. London, 1972.
- 21.-Jonas, A. M.: Long-Term Holding of Laboratory Rodents. National Research Council. ILAR News, 19, 3: 10-18. (1976).
- 22.-Lane, P. W.: The Laboratory Mouse In: The UFAW Handbook on the care and Management of Laboratory Animals, 4th. Edited by: E. and S. Churchill-Livingstone. London, 187-198. (1972).
- 23.-NASc: Genetics. Institute of Laboratory Animal Resources. Division of Biological Sciences. Assembly of Life Sciences. National Research Council. ILAR-News, 23 (1): 3-15. (1979)
- 24.-NRC.: A Guide to Genetic Standards for Laboratory Animals. A report of the Subcommittee on Genetic Standards. Institute of Laboratory Animal Resources, National Academy of Sciences. Washington, D. C., 1969.

- 25.-NRC.: Animals for Research. Institute of Laboratory Animal Resources, National Academy of Sciences. Washington, D. C., 1975.
- 26.-NRC.: Institute of Laboratory Animal Resources. Committee on Long-Term Holding of Laboratory Rodents. ILAR-News, 23, 1, Fall: 4-8 (1979).
- 27.-Parrot, R. F. and Festing, M. F. W.: Genetic Control In: Standardized Laboratory Animals, Manual Series No. 2. Medical Research Council, edited by: Laboratory Animal Centre, 9-12, Carshalton, U. K., (1977).
- 28.-Pooley, S. M.: A Systematic method of breeder rotation for non-inbred Laboratory animal colonies. Proceedings of the Animal Care Panel, Ng. 1960: 159-196, edited by: Lab. Anim. J. 10 Ng. (4): 159-196 (1960).
- 29.-Roderick, T. H. and Schlager, G.: Multiple factor inheritance. In: The Biology of Laboratory Mouse. Edited by: The Staff of the Jackson Laboratory, 151-166. Mc Graw Hill Co., New York, 1965.
- 30.-Staats, J.: Nomenclature. In: The Biology of the Laboratory Mouse. Edited by: The Staff of The Jackson Laboratory, 45-50. Mc Graw Hill, New York, 1976.

31.-Zeuner, F. E.: A History of Domestic Animals. Biology of
The Laboratory Rabbit. Academic Press. Philadelphia.
1978.