



Artículo original

Evaluación preliminar del efecto de dos protocolos analgésicos sobre indicadores de bienestar perioperatorio en ratones BALB/cAnNLAE sometidos a vasectomía

Preliminary evaluation of the effect of two analgesic protocols on perioperative welfare indicators in BALB/cAnNLAE mice subjected to vasectomy

Fabricio Maschi*, Juan Laborde, Martín Carriquiriborde, Johana Almirón, Clara Vercellini, Silvana Milocco, Miguel Ayala

Laboratorio de Animales de Experimentación - LAE – FCV UNLP

* f.maschi@gmail.com – fmaschi@fcv.unlp.edu.ar

RESUMEN:

En el ratón de laboratorio se emplean diferentes protocolos de analgesia y anestesia; sin embargo, no existe un esquema estandarizado, ya que su aplicación depende de múltiples factores, entre ellos las combinaciones de fármacos utilizadas, la necesidad de ajustes periódicos en cada laboratorio y la respuesta particular de cada procedimiento y cepa. En este contexto, los analgésicos meloxicam y meglumine de flunixin, aunque utilizados en la práctica, aún cuentan con escasa evaluación comparativa respecto de su eficacia y sus efectos sobre el bienestar del ratón de experimentación. En este estudio piloto se utilizaron 15 ratones macho de la cepa BALB/cAnN para evaluar los efectos de estos dos analgésicos administrados en el período perioperatorio de una vasectomía. Para valorar el bienestar de los animales se realizaron observaciones conductuales en la caja de alojamiento a las 24, 48 y 72 horas posteriores a la cirugía, registrándose comportamientos como acicalado, trepar, defecación y excavación. Además, se aplicó la prueba de excavación burrowing. Los análisis estadísticos no evidenciaron diferencias significativas entre tratamientos para los comportamientos de acicalado, trepar, defecación y excavación ($p > 0,05$). En la prueba de burrowing se detectó un efecto del tiempo de observación, con una contribución principal del tratamiento Vasectomía-Meloxicam en la interacción tiempo-tratamiento. En conjunto, este estudio preliminar aporta información comparativa sobre el uso de dos analgésicos en el período perioperatorio y contribuye a la selección de protocolos que favorezcan el bienestar de los animales de experimentación.

Palabras clave: Ratón BALB/c, Analgesia, Comportamiento, Vasectomía

ABSTRACT

Different anesthesia and analgesia protocols are used in laboratory mice; however, no standardized regimen exists, as their application depends on multiple factors, including the combinations of drugs employed, the need for periodic adjustments in each laboratory, and the specific response associated with each procedure and mouse strain. In this context, the analgesics meloxicam and flunixin meglumine, although commonly used in practice, still lack sufficient comparative evaluation regarding their efficacy and their effects on the welfare of laboratory mice. In this pilot study, fifteen male BALB/cAnN mice were used to evaluate the effects of these two analgesics administered during the perioperative period of a vasectomy procedure. Animal welfare was assessed through behavioral observations in the home cage at 24, 48, and 72 hours after surgery, recording behaviors such as grooming, climbing, defecation, and digging. In addition, the burrowing test was performed. Statistical analyses did not reveal significant differences between treatments for grooming, climbing, defecation, and digging behaviors ($p > 0.05$). In the burrowing test, an effect of observation time was detected, with the Vasectomy-Meloxicam treatment contributing mainly to the time-treatment interaction. Overall, this preliminary study provides comparative information on the use of two analgesics during the perioperative period and contributes to the selection of protocols that promote the welfare of laboratory animals.

Key words: BALB/c Mice, Analgesia, Behaviour, Vasectomy

INTRODUCCIÓN:

Los principios de Reducción, Reemplazo y Refinamiento (3Rs), formulados por Russell y Burch en *The Principles of Humane Experimental Techniques*¹,

constituyen el marco ético y metodológico que orienta la investigación con animales de laboratorio. Dentro de este enfoque, el refinamiento comprende el conjunto de estrategias destinadas a minimizar el dolor, el estrés y el sufrimiento de los animales, así como a optimizar

los procedimientos experimentales^{2, 3}. Este principio se articula estrechamente con la reducción y el reemplazo, ya que la mejora del diseño experimental, el uso de información previa disponible y la implementación de métodos alternativos o estudios piloto contribuyen simultáneamente a disminuir el número de animales utilizados y a mejorar su bienestar⁴.

En los procedimientos experimentales que se ejecutan a diario con los animales también se aplica el refinamiento, ya que este incluye todas las operaciones para minimizar y eliminar el dolor, a fin de garantizar el bienestar animal⁵. El dolor no tratado puede alterar el comportamiento, la fisiología y la respuesta inmunológica de los animales, incrementando la variabilidad experimental y afectando la reproducibilidad de los resultados⁶⁻⁸. Estas alteraciones pueden comprometer la confiabilidad de los estudios y conducir a la necesidad de utilizar un mayor número de animales para obtener resultados estadísticamente robustos⁹.

En este contexto, diversas prácticas contribuyen al refinamiento en la experimentación animal, entre ellas garantizar condiciones de alojamiento que permitan la expresión de comportamientos propios de la especie¹⁰, la utilización de protocolos adecuados de anestesia y analgesia para el control del dolor¹¹, y la implementación de estrategias de manejo y entrenamiento que reduzcan el estrés asociado a los procedimientos experimentales.

En la investigación con animales de laboratorio se han desarrollado diversos métodos para evaluar el bienestar durante los procedimientos experimentales. Estos incluyen indicadores conductuales, fisiológicos y clínicos que permiten detectar alteraciones asociadas al dolor o al estrés. En este contexto, la aplicación de sedación, anestesia y analgesia constituye una estrategia fundamental de refinamiento en numerosos modelos experimentales, particularmente en aquellos que implican procedimientos invasivos o quirúrgicos¹⁰⁻¹³.

El ratón (*Mus musculus*) constituye uno de los modelos animales más utilizados en investigación biomédica debido a su disponibilidad, facilidad de manejo y amplio conocimiento de su biología⁵. En este contexto, la analgesia perioperatoria representa un componente fundamental del refinamiento en procedimientos quirúrgicos realizados en ratones de laboratorio, ya que contribuye a minimizar el dolor y el estrés asociados a las intervenciones experimentales⁶⁻⁷. Sin embargo, no existe un protocolo analgésico universalmente estandarizado para esta especie, debido a que la respuesta a los fármacos puede variar según la cepa, el tipo de procedimiento quirúrgico y las condiciones experimentales^{7,14,15,16}. Entre los analgésicos utilizados en roedores de laboratorio, los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), como meloxicam y meglumine de flunixin, se emplean con frecuencia para el control del dolor postquirúrgico^{7,14,16,17,18}.

El mecanismo de acción de ambos fármacos se basa en la inhibición de la ciclooxigenasa (COX), enzima clave en la síntesis de prostaglandinas involucradas en los procesos inflamatorios y nociceptivos. Sin embargo, ambos fármacos difieren en su perfil farmacológico, ya que meloxicam presenta una inhibición preferencial de COX-2, mientras que meglumine de flunixin se considera un inhibidor no selectivo de COX. Estas diferencias farmacodinámicas podrían influir en la magnitud y duración del efecto analgésico y, en consecuencia, en la expresión de comportamientos asociados al dolor y al bienestar durante el período perioperatorio^{15,17-18,20}.

Numerosos estudios experimentales han evaluado los efectos de distintos anestésicos y analgésicos sobre

variables fisiológicas y conductuales en roedores de laboratorio, incluyendo actividad locomotora, consumo de alimento y agua, respuesta al dolor y recuperación postquirúrgica, con el objetivo de optimizar los protocolos de manejo perioperatorio y mejorar el bienestar animal^{18-21, 24, 28-30}. Asimismo, diversos estudios han demostrado que factores ambientales y de manejo, como las condiciones de alojamiento o la organización social, pueden influir en la recuperación postoperatoria y en los indicadores de bienestar en roedores de laboratorio^{22,23}.

Entre los indicadores conductuales utilizados para evaluar bienestar y recuperación en roedores se incluyen ensayos de comportamiento natural, como la prueba de *burrowing*, considerada un indicador sensible de alteraciones en el estado fisiológico o de bienestar²⁴.

El objetivo de este trabajo piloto fue evaluar el efecto de dos analgésicos, meloxicam y meglumine de flunixin, sobre indicadores conductuales de bienestar en ratones BALB/cAnNLAE machos sometidos a vasectomía.

Se plantea como hipótesis que la administración de diferentes protocolos analgésicos durante el período perioperatorio produce diferencias en los indicadores conductuales de dolor y bienestar de esta especie.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Animales y condiciones de alojamiento

Se utilizaron 15 ratones macho de la cepa BALB/cAnNLAE libres de patógenos específicos (SPF), de 6 semanas de edad, provenientes del Bioterio del Laboratorio de Animales de Experimentación (LAE), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata.

Los animales se mantuvieron bajo un sistema de barreras sanitarias en racks ventilados, siguiendo los procedimientos operativos estándar del LAE y las recomendaciones internacionales para el cuidado de animales de laboratorio. Las condiciones ambientales se mantuvieron a una temperatura de 23 ± 2 °C, humedad relativa de 55 ± 20 %, ciclo luz-oscuridad de 12:12 h y 15 recambios de aire por hora.

Diseño experimental

Tratamientos

Los animales se distribuyeron aleatoriamente en cinco grupos experimentales (n = 3 por grupo): VM (ratones vasectomizados tratados con meloxicam), VA (ratones vasectomizados tratados con meglumine de flunixin), CM (ratones tratados con meloxicam sin vasectomía), CA (ratones tratados con meglumine de flunixin sin vasectomía) y CN (grupo control negativo, sin cirugía ni tratamiento). Los animales de los grupos VM y CM recibieron meloxicam (4 mg/kg, vía subcutánea), mientras que los grupos VA y CA recibieron meglumine de flunixin (2,5 mg/kg, vía subcutánea) siguiendo protocolos de analgesia postoperatoria previamente descritos para ratones²⁰. En los grupos sometidos a cirugía (VM y VA), la analgesia se administró previamente a la anestesia y se continuó cada 24 h durante siete días posteriores al procedimiento quirúrgico. En los grupos sin intervención quirúrgica (CM y CA), la analgesia se administró previamente a la anestesia y se continuó cada 24 h durante siete días posteriores a la recuperación anestésica. Se administró una única dosis perioperatoria de enrofloxacin (10 mg/kg) por vía subcutánea como profilaxis antibiótica³².

Procedimiento quirúrgico:

Una semana previa al inicio del estudio los animales fueron trasladados a la sala experimental para su aclimatación y familiarización con el dispositivo utilizado en la prueba de excavación (*burrowing test*), empleado posteriormente para la evaluación del bienestar animal. Los ratones de los grupos VM, VA, CM y CA fueron sometidos a anestesia inhalatoria con isoflurano mediante un sistema de circuito abierto equipado con un vaporizador exclusivo (Herlam, ISOVAP 2000). No se realizó ayuno previo. Durante el procedimiento se mantuvo la temperatura ambiente a 25 °C y, para prevenir la hipotermia, los animales se colocaron sobre una almohadilla térmica durante toda la cirugía y hasta su recuperación completa. Los animales de los grupos VM y VA fueron sometidos a vasectomía mediante abordaje abdominal. Previamente se realizó el rasurado de la región abdominal media y una incisión cutánea en la línea media, aproximadamente 1,5 cm por delante de la papila genital y de alrededor de 1 cm de longitud. Posteriormente se incidió la pared abdominal y se localizaron los conductos deferentes a cada lado de la vejiga. Cada conducto deferente fue exteriorizado, ligado con dos suturas de hilo absorbible 4-0 colocadas a una distancia de 3–5 mm y seccionado entre ambas ligaduras. La pared abdominal se cerró mediante suturas discontinuas y la

piel con sutura simple no absorbible. Luego se retiró la mascarilla hasta alcanzar la recuperación y finalmente fueron colocados en una caja acondicionada para la recuperación completa y posterior monitoreo.

Indicadores de bienestar:

El bienestar animal se evaluó en todos los individuos mediante indicadores conductuales y mediante la prueba *burrowing*. Para esta prueba se utilizó un tubo de PVC de 200 mm de largo y 68 mm de diámetro, cerrado en un extremo y elevado 30 mm en el otro mediante tornillos de 50 mm de longitud. El tubo se llenó con pellets de alimento balanceado comercial para rata-ratón y se colocó en la caja de alojamiento de cada animal. El ensayo consistió en cuantificar el alimento removido del tubo luego de 24 h de exposición al dispositivo.

Adicionalmente, se realizó un análisis de frecuencias comportamentales mediante observación directa. Tanto las observaciones conductuales como la prueba de *burrowing* fueron realizadas por un operador cegado respecto de los tratamientos experimentales. Cada ratón fue colocado individualmente en una caja limpia con lecho de marlo y observado durante 30 minutos. Los comportamientos se registraron mediante un etograma basado en las categorías conductuales descritas por Maschi (2017)²⁵ (Tabla 1).

Tabla 1. Etograma para el registro de categorías conductuales en ratones de la cepa BALB/cAnNLAE

ETOGRAMA			
Conductas locomotoras / exploratorias	Conductas de mantenimiento	Conductas fisiológicas	Conductas de inmovilidad / estrés
Elevarse: el animal sostiene el peso del cuerpo sobre los miembros posteriores levantando los miembros anteriores y orientando la cabeza hacia arriba.	Acicalarse: lamido de la piel y desplazamiento de los miembros anteriores sobre la superficie anterior del cuerpo, así como rascado con cualquiera de los miembros.	Defecar/orinar: expulsión de pellets fecales o micción, generalmente acompañada por una postura inmóvil con descenso de la región posterior del cuerpo.	Freezing: inmovilidad completa del animal durante más de un segundo.
Trepar: el ratón se despega del piso y se sostiene con uno o más miembros sobre las rejillas del comedero o la tapa de la caja.	Comer/beber: ingestión de alimento o agua desde la tolva.		
Explorar: desplazamiento activo por la caja acompañado de conductas de olfateo del entorno.			
Excavar: el animal remueve el lecho de la caja introduciéndose parcial o totalmente en él.			

El etograma incluyó las siguientes categorías conductuales: **elevarse**, cuando el animal sostiene el peso del cuerpo sobre los miembros posteriores levantando los miembros anteriores y orientando la cabeza hacia arriba; **trepar**, cuando el ratón se despega del piso y se sostiene con uno o más miembros sobre las rejillas del comedero o la tapa de la caja; **acicalarse**, caracterizado por el lamido de la piel y el desplazamiento de los miembros anteriores sobre la superficie anterior del cuerpo, así como el rascado con cualquiera de los miembros; **excavar**, cuando el animal remueve el lecho de la caja introduciéndose parcial o totalmente en él; **explorar**, definido como el desplazamiento activo por la caja con conductas de olfateo del entorno; **defecar/orinar**, correspondiente a la expulsión de pellets fecales o micción, esta última generalmente acompañada por una postura inmóvil con descenso de la región posterior del cuerpo; **comer/beber**, correspondiente a la ingestión de alimento o agua desde la tolva; y **freezing**, definido como la inmovilidad completa del animal durante más de un segundo.

Los pasos del diseño experimental se describen en la Figura 1.

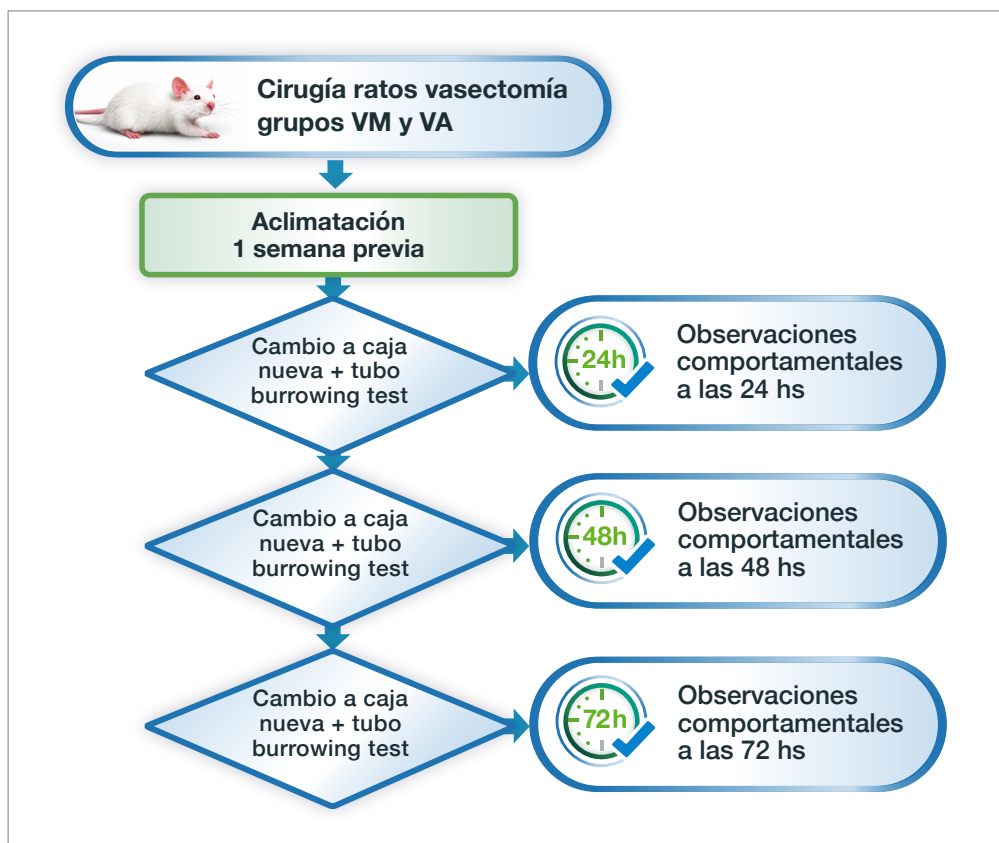


Figura 1. Diseño experimental

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El presente estudio se planteó como una prueba piloto con el objetivo de estimar la variabilidad de los datos y orientar el cálculo del tamaño muestral para futuros experimentos. Para ello se utilizaron tres animales por grupo experimental.

Las variables comportamentales registradas se analizaron mediante modelos lineales considerando como factores fijos el tratamiento (VM, VA, CM, CA y CN) y el tiempo de observación (24, 48 y 72 h). Inicialmente se evaluó un modelo mixto incorporando el animal individual y la corrida experimental como efectos aleatorios para considerar la posible dependencia entre mediciones repetidas. Sin embargo, dado que estos factores no mostraron efectos significativos, se excluyeron del modelo final.

Posteriormente se ajustaron modelos de análisis de varianza factorial (ANOVA) para evaluar los efectos de tratamiento, tiempo y su interacción sobre cada variable comportamental. Las comparaciones entre grupos se realizaron mediante medias de mínimos cuadrados (LSMeans) y sus intervalos de confianza.

El nivel de significancia estadística se estableció en $\alpha = 0,05$.

Debido al tamaño muestral reducido propio de un estudio piloto, los resultados se interpretaron de manera exploratoria.

RESULTADOS:

El análisis de los comportamientos registrados a las 24, 48 y 72 h posteriores al procedimiento no evidenció efectos significativos del tratamiento sobre las

variables evaluadas. En el caso del comportamiento de acicalado, la variable presentó un ajuste a una distribución binomial negativa y los análisis estadísticos no mostraron diferencias significativas entre tratamientos ni entre tiempos de observación. Un análisis preliminar considerando distribución normal mostró una disminución del acicalado a las 48 h asociada principalmente al tratamiento CM. El análisis de potencia indicó que, con el tamaño muestral utilizado en este estudio piloto, la potencia estadística para detectar diferencias en el comportamiento de acicalado fue baja (Fig. 2 y 3).

Para el comportamiento de trepar, la variable presentó una distribución normal y no se detectaron diferencias significativas entre tratamientos ni entre tiempos de observación (Fig. 4 y 5). De manera similar, la variable defecación, que presentó una distribución binomial negativa, no mostró diferencias significativas entre tratamientos ni entre los distintos días de observación (Fig. 6 y 7).

El comportamiento de excavación presentó un mejor ajuste a una distribución normal, aunque se observó acumulación de probabilidad en valores altos asociada al límite superior de la escala de observación. Los análisis estadísticos no evidenciaron efectos de los tratamientos ni del tiempo de observación sobre esta variable (Fig. 8 y 9).

En la prueba *burrowing*, la variable presentó un mejor ajuste a una distribución log-normal. El ajuste de modelos bajo distribución log-normal o normal mostró resultados similares. En este caso se detectó un efecto del tiempo de observación, y el análisis de la interacción tratamiento por tiempo indicó que el tratamiento VM contribuyó principalmente a este efecto (Fig. 10 y 11).

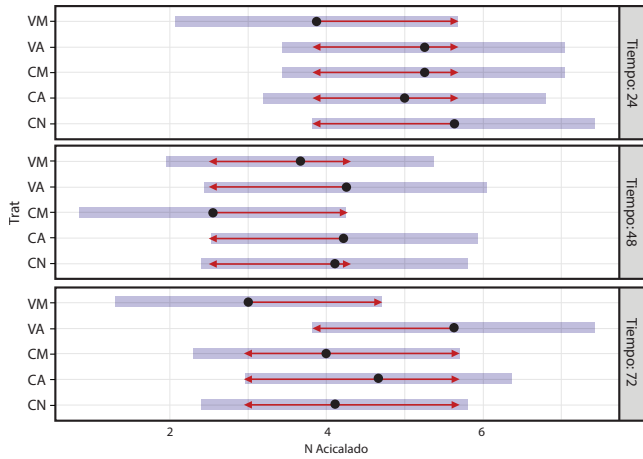


Figura 2. Acicalado: comparación de medias de mínimos cuadrados entre tratamientos en cada tiempo.

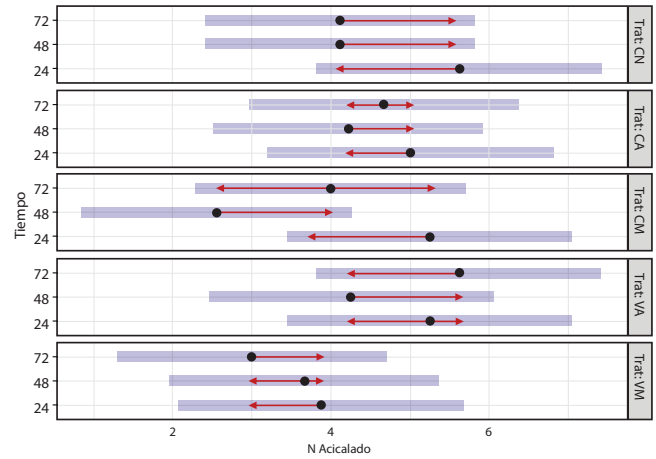


Figura 3. Acicalado: comparación de medias de mínimos cuadrados entre tiempos para cada tratamiento.

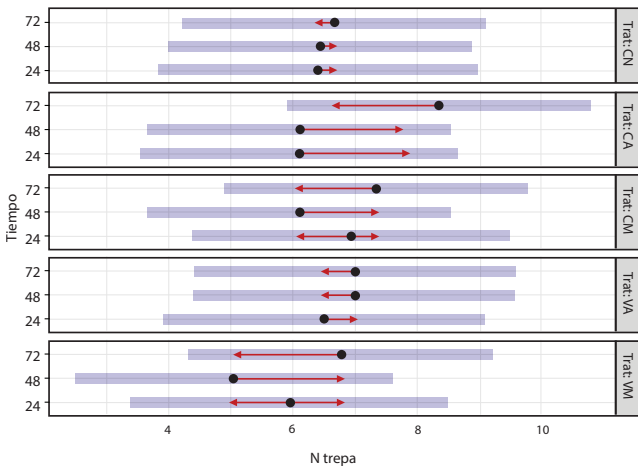


Figura 4. Trepar: comparación de medias de mínimos cuadrados entre tratamientos para cada tiempo.

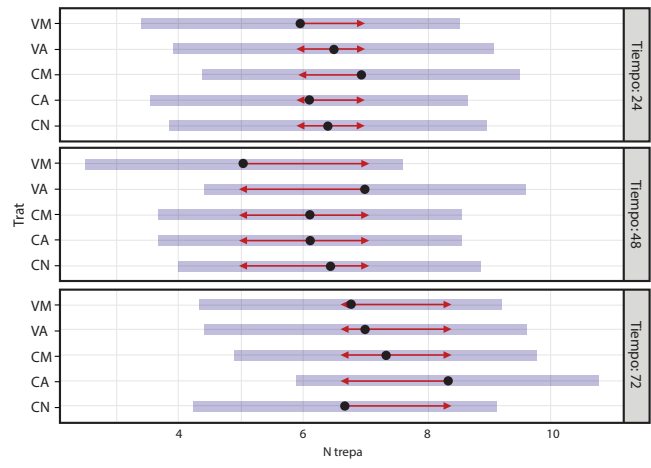


Figura 5. Trepar: comparación de medias de mínimos cuadrados entre tiempos para cada tratamiento.

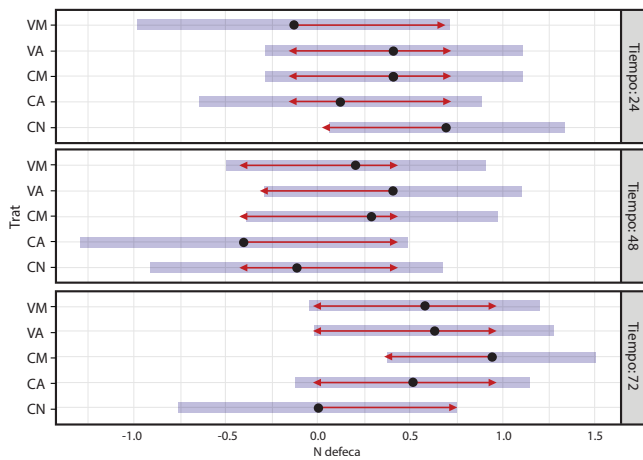


Figura 6. Defecación: comparación de medias de mínimos cuadrados entre tratamientos para cada tiempo.

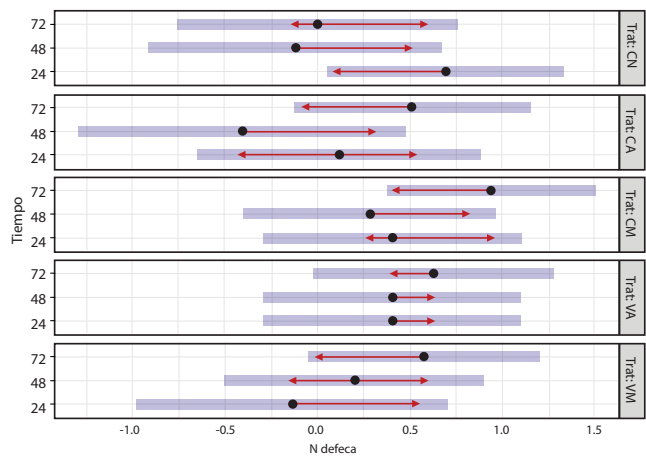


Figura 7. Defecación: comparación de medias de mínimos cuadrados entre tiempos para cada tratamiento.

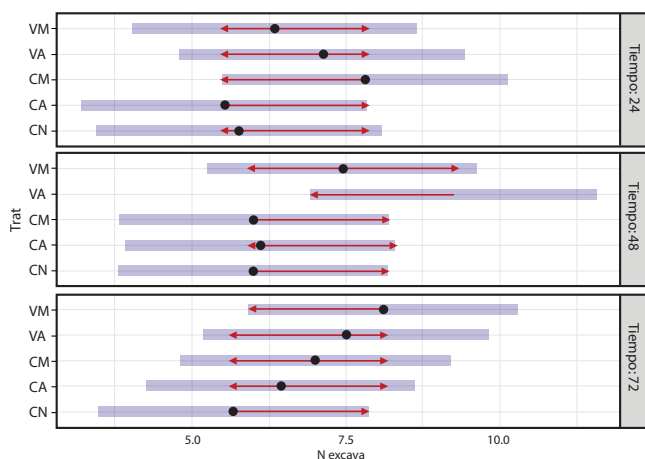


Figura 8. Excavar: comparación de medias de mínimos cuadrados entre tratamientos para cada tiempo.

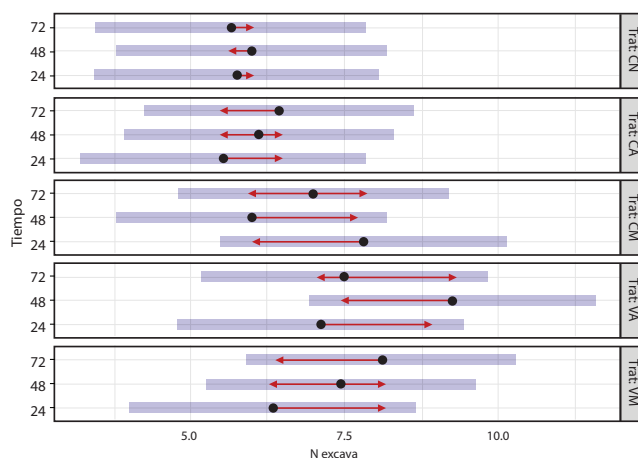


Figura 9. Excavar: comparación de medias de mínimos cuadrados entre tiempos para cada tratamiento.

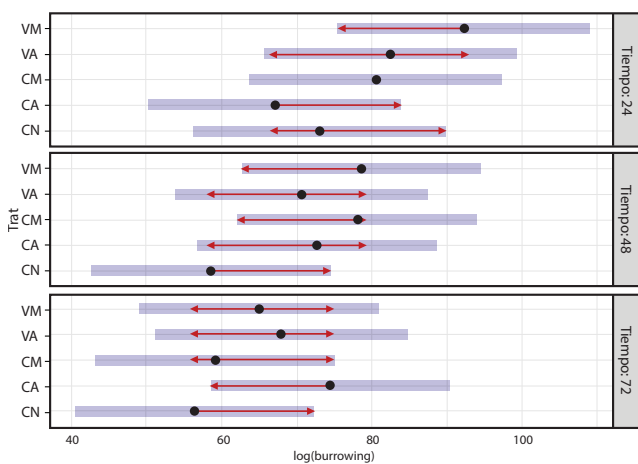


Figura 10- Burrowing - Comparación de medias de mínimos cuadrados entre tratamientos para cada tiempo.

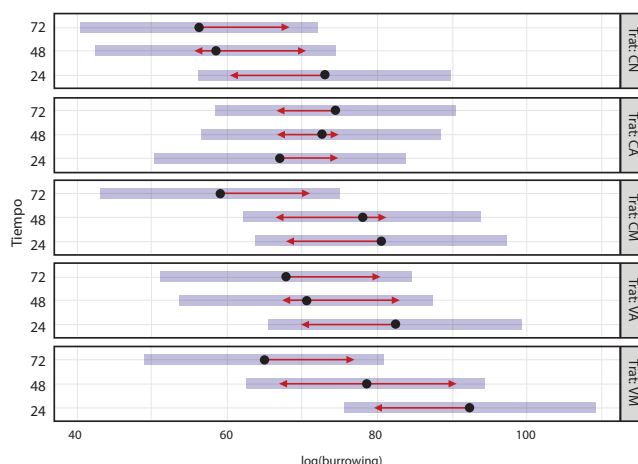


Figura 11- Burrowing: Comparación de medias de mínimos cuadrados entre tiempos para cada tratamiento.

Las conductas explorar, elevarse, comer, beber y freezing no se analizaron estadísticamente debido a la ausencia de variación o saturación de los registros observacionales.

DISCUSIÓN

Si bien en este estudio piloto los análisis estadísticos no evidenciaron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados para la mayoría de las variables comportamentales registradas, los resultados obtenidos aportan información preliminar sobre el comportamiento de ratones sometidos a vasectomía y tratados con distintos protocolos analgésicos. En particular, los comportamientos de acicalado, trepar, defecación y excavación no mostraron efectos significativos asociados al tratamiento ni al tiempo de observación. No obstante, en el caso del comportamiento de acicalado se observó, en un análisis exploratorio considerando distribución normal, una leve tendencia a la disminución de este comportamiento a las 48 h, principalmente asociada a los animales tratados con meloxicam. Si bien estas

diferencias fueron pequeñas y no alcanzaron significación estadística, podrían sugerir variaciones sutiles en la expresión conductual que no pudieron detectarse con el tamaño muestral utilizado en este estudio piloto.

De manera similar, los comportamientos de trepar y excavar no evidenciaron diferencias entre tratamientos ni entre los distintos momentos de observación. En el caso de la defecación tampoco se detectaron diferencias estadísticamente significativas, aunque se observó gráficamente una leve tendencia al aumento del número de eventos hacia las 72 h, patrón que no fue respaldado por los análisis estadísticos. En conjunto, estos resultados sugieren que, bajo las condiciones experimentales evaluadas, los protocolos analgésicos empleados no produjeron diferencias detectables en las variables conductuales analizadas; sin embargo, el reducido tamaño muestral propio de esta prueba piloto limita la capacidad estadística para detectar posibles diferencias sutiles entre tratamientos.

En la prueba de *burrowing*, considerada un indicador sensible de alteraciones en el estado fisiológico y de bienestar en roedores³², se detectó un efecto

del tiempo de observación, con una contribución principal del tratamiento VM en la interacción tiempo–tratamiento. Este patrón podría reflejar variaciones en la dinámica de recuperación conductual durante el período postoperatorio; no obstante, debe interpretarse con cautela debido al tamaño muestral reducido y a la naturaleza exploratoria del estudio^{2,4}.

Diversos trabajos han señalado que la respuesta a los analgésicos en roedores puede variar en función del tipo de procedimiento quirúrgico, la dosis administrada y la cepa utilizada. En este sentido, estudios previos han reportado diferencias en la respuesta analgésica entre cepas de ratones y entre distintos modelos quirúrgicos, lo que resalta la importancia de evaluar los protocolos analgésicos en contextos experimentales específicos^{16, 17, 21}. Asimismo, distintos trabajos han evaluado el efecto de analgésicos y anestésicos sobre variables fisiológicas y comportamentales en roedores de laboratorio, incluyendo actividad locomotora, respuesta al dolor y recuperación postquirúrgica^{12, 14, 18, 19}.

Finalmente, este estudio resalta la importancia de las pruebas piloto en el diseño de experimentos con animales de laboratorio. Este tipo de estudios permite estimar la variabilidad de los datos y orientar el cálculo del tamaño muestral para investigaciones posteriores, favoreciendo el refinamiento de los protocolos experimentales y la aplicación de los principios de Reducción, Reemplazo y Refinamiento (3Rs) en la investigación con animales^{1, 3, 5}. En futuros estudios, sería pertinente considerar intervalos de observación más cortos durante el período postoperatorio, lo que podría permitir detectar cambios conductuales tempranos asociados al dolor. Asimismo, la incorporación de herramientas complementarias para

la evaluación del bienestar, como escalas de expresión facial en roedores (por ejemplo, Grimace Scale)³⁴, podría aportar mayor sensibilidad para identificar variaciones sutiles en la respuesta al dolor en este tipo de modelos experimentales.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

Los procedimientos experimentales que se llevaron a cabo con animales en este proyecto estuvieron de acuerdo con las recomendaciones establecidas por FELASA (Federation of European Laboratory Animal Associations) sobre el control sanitario y por la Guía para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio, National Academies (2010) para el bienestar animal. Este proyecto fue evaluado y aprobado por el Comité Institucional para Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio de la FCV – UNLP (CICUAL FCV UNLP) bajo el código: 81-1-18P. Como criterio de punto final humanitario se estableció la aparición de signos clínicos compatibles con enfermedad o dolor persistente que no cediera con la terapia analgésica administrada y que excediera lo esperado para el procedimiento de vasectomía. En tales casos se hubiera procedido a la interrupción del experimento y al retiro del animal del estudio. No obstante, durante el desarrollo del ensayo no se registraron animales que cumplieran estos criterios, por lo que el punto final experimental se alcanzó al término del período de observación establecido.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no poseer conflicto de interés.

BIBLIOGRAFÍA

- Russell WMS, Burch RL. *The principles of humane experimental technique*. London: Methuen; 1959.
- National Research Council (US). *Guide for the care and use of laboratory animals*. 8th ed. Washington (DC): National Academies Press; 2010.
- Tannenbaum J, Bennett BT. Russell and Burch's 3Rs then and now: the need for clarity in definition and purpose. *J Am Assoc Lab Anim Sci*. 2015;54(2):120–132.
- Leach MC, Klaus K, Miller AL, Scotto di Perrotolo M, Sotocinal SG, Flecknell PA. The assessment of post-vasectomy pain in mice using behaviour and the Mouse Grimace Scale. *PLoS One*. 2012;7(4):e35656.
- Craver J. Refinement in laboratory animal science: is it a Cinderella subject, and is there conflict and imbalance within the 3Rs? *Scand J Lab Anim Sci*. 1994;21(4):161–167.
- Altmann J. Observational study of behavior: sampling methods. *Behaviour*. 1974;49:227–267.
- Roughan JV, Wright-Williams SL, Flecknell PA. Automated analysis of postoperative behaviour: assessment of HomeCageScan as a novel method to rapidly identify pain and analgesic effects in mice. *Lab Anim*. 2009;43:17–26.
- Carbone C, Ayala MÁ, Cagliada MDPL. *Ciencia y bienestar de los animales de laboratorio*. La Plata: Libros de Cátedra; 2021.
- Carbone L. Pain in laboratory animals: the ethical and regulatory imperatives. *PLoS One*. 2011;6(9):e21578.
- Roughan JV, Flecknell PA. Behavioural effects of laparotomy and analgesic effects of ketoprofen and carprofen in rats. *Pain*. 2001;90(1-2):65–74.
- Mogil JS. Animal models of pain: progress and challenges. *Nat Rev Neurosci*. 2009;10(4):283–294.
- Duke University and Medical Center Animal Care and Use Program. Guidelines for systemic analgesics (rodents) [Internet]. 2009 [cited 2010 Apr 13]. Available from: http://vetmed.duhs.duke.edu/guidelines_for_analgesics_mouse.htm
- Arras M, Rettich A, Cinelli P, Kasermann H, Burki K. Assessment of post-laparotomy pain in laboratory mice by telemetric recording of heart rate and heart rate variability. *BMC Vet Res*. 2007;3:16.
- Arras M, Rettich A, Seifert B, Kasermann HP, Rulicke T. Should laboratory mice be anaesthetized for tail biopsy? *Lab Anim*. 2007;41:30–45.
- Goecke JC, Awad H, Lawson JC, Boivin GP. Evaluating postoperative analgesics in mice using telemetry. *Comp Med*. 2005;55:37–44.
- Hawkins P. Recognizing and assessing pain, suffering, and distress in laboratory animals: a survey of current practice in the UK with recommendations. *Lab Anim*. 2002;36:378–395.
- Hayes KE, Raucci JA Jr, Gades NM, Toth LA. An evaluation of analgesic regimens for abdominal surgery in mice. *Contemp Top Lab Anim Sci*. 2000;39:18–23.
- Kohn DF, Martin TE, Foley PL, Morris TH, Swindle

- MM, Vogler GA, Wixson SK. Guidelines for the assessment and management of pain in rodents and rabbits. *J Am Assoc Lab Anim Sci.* 2007;46:97–108.
19. Wright-Williams SL, Courade JP, Richardson CA, Roughan JV, Flecknell PA. Effects of vasectomy surgery and meloxicam treatment on faecal corticosterone levels and behaviour in laboratory mice. *Pain.* 2007;130:108–118.
 20. Tubbs JT, Kissling GE, Travlos GS, Goulding DR, Clark JA, King-Herbert AP, Blankenship-Paris TL. Effects of buprenorphine, meloxicam, and flunixin meglumine as postoperative analgesia in mice. *J Am Assoc Lab Anim Sci.* 2011;50:185–191.
 21. Liles JH, Flecknell PA. The use of nonsteroidal antiinflammatory drugs for the relief of pain in laboratory rodents and rabbits. *Lab Anim.* 1992;26:241–255.
 22. Flecknell PA, Liles JH. The effects of surgical procedures, halothane anaesthesia and nalbuphine on locomotor activity and food and water consumption in rats. *Lab Anim.* 1991;25(1):50–57.
 23. Cesarovic N, Nicholls F, Rettich A, Kronen P, Hassig M, Jirkof P, Arras M. Isoflurane and sevoflurane provide equally effective anaesthesia in laboratory mice. *Lab Anim.* 2010;44:329–336.
 24. Adamson TW, Kendall LV, Goss S, Grayson K, Touma C, Palme R, Chen JQ, Borowsky AD. Assessment of carprofen and buprenorphine on recovery of mice after surgical removal of the mammary fat pad. *J Am Assoc Lab Anim Sci.* 2010;49:610–616.
 25. Maschi F. El efecto del enriquecimiento ambiental sobre la variabilidad de parámetros fisiológicos y conductuales en ratones de laboratorio [tesis]. La Plata: Universidad Nacional de La Plata; 2017. Disponible en: <https://doi.org/10.35537/10915/63094>
 26. Van Loo PLP, Kuin N, Sommer R, Avsaroglu H, Pham T, Baumans V. Impact of 'living apart together' on postoperative recovery of mice compared with social and individual housing. *Lab Anim.* 2007;41:441–455.
 27. Deacon R. Burrowing: a sensitive behavioural assay, tested in five species of laboratory rodents. *Behav Brain Res.* 2009;200(1):128–133.
 28. Kalliokoski O, Abelson KSP, Koch J, Boschian A, Thormose SF, Fauerby N, Rasmussen RS, Johansen FF, Hau J. The effect of voluntarily ingested buprenorphine on rats subjected to surgically induced global cerebral ischaemia. *In Vivo.* 2010;24:641–646.
 29. LaBuda CJ, Sora I, Uhl GR, Fuchs PN. Stress-induced analgesia in μ -opioid receptor knockout mice reveals normal function of the δ -opioid receptor system. *Brain Res.* 2000;869:1–5.
 30. Liles JH, Flecknell PA. The effects of buprenorphine, nalbuphine, and butorphanol alone or following halothane anaesthesia on food and water consumption and locomotor movement in rats. *Lab Anim.* 1992;26:180–189.
 31. Wheat NJ, Cooper DM. A simple method for assessing analgesic requirements and efficacy in rodents. *Lab Anim (NY).* 2009;38:246–247.
 32. Wilcox RS, Marena MS, Devlin JM, Wilks CR. Antimicrobial use in laboratory rodent facilities in Australia and New Zealand: a cross-sectional survey. *PLoS One.* 2024;19(8):e0292908.
 33. Resasco A, Foltran RB, Carbone C, Diaz SL. Effect of simple and complex enrichment added to standardized cages in female Swiss mice. *Behav Neurosci.* 2021;135(3):380–389.
 34. Onuma K, Watanabe M, Sasaki N. The grimace scale: a useful tool for assessing pain in laboratory animals. *Exp Anim.* 2024;73(3):234–245.



Este artículo está bajo una Licencia Creative Commons. Atribución-No Comercial-Sin Derivadas 4.0 Internacional <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>