

Título: Guía Anestesia y Analgesia en Ratón		
Nº. 2.2.2.1	Fecha: 29/11/11	Pág. 1 de 8

GUÍA PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO

Título:	Autor:
Guía de Anestesia y Analgesia en Ratón	Irene Mudarra Fraguas
	Revisado:
	Alberto Pastor Campos
	Fecha de elaboración:
	15/12/09
	Fecha de revisión:
	29/11/11

Responsabilidad:

Asignado: Especialistas técnicos, técnicos medios y técnicos de laboratorio del SEA

Propietario: Técnico de laboratorio del SEA

Introducción:

Este procedimiento tiene como fundamento mostrar las estrategias de anestesia y analgesia más recomendables en el ratón en función de la severidad del procedimiento quirúrgico.

Material necesario:

- Cloruro de Etilo
- Lidocaína
- Crema anestésica (EMLA®, AstraZeneca)
- Ungüento oftálmico (Duratears®, Alcon)
- Aguja de 25-27 G.
- Jeringas de 1 ml
- Manta térmica

Descripción del proceso:

A. Consideraciones previas:

1. Aclimatación: Asegúrese de que el/los animal/es ha/n realizado correctamente su aclimatación (mínimo 5 días). Si el animal va a permanecer aislado tras la cirugía,

Fecha: Firmado:	Fecha: Firmado:	Fecha: Firmado:
Responsable redacción:	Responsable revisión:	Responsable aprobación:

Título: Guía Anestesia y Analgesia en Ratón

Nº. 2.2.2.1

Fecha: 29/11/11

Pág. 2 de 8

se recomienda alojarlo individualmente 5-7 días antes de la cirugía, para que el hecho de estar solo no suponga un factor de estrés postquirúrgico añadido.

2. Planificación cirugía: Compruebe que se cumplen las siguientes condiciones:
 - a. Tiene suficientes animales para su experimento.
 - b. Tiene un quirófano reservado.
 - c. Va poder administrar el protocolo analgésico completo. Tenga en cuenta que el animal no se va de fin de semana.
 - d. Dispone de todo el material necesario.
 - e. Ha esterilizado todo el material necesario para realizar una cirugía aséptica: material quirúrgico, paños, gasas, etc.
3. Ayuno del animal: No es necesario salvo que sea una cirugía que implique el abordaje del tracto gastro-intestinal. Si fuese necesario, el ayuno máximo será de 4-6 horas de duración (para evitar la ingestión de heces sitúe al animal en una jaula con suelo de rejilla). El agua nunca debe restringirse.
4. Prevención de hipotermia: La hipotermia es una de las causas de mortalidad más frecuentes en la cirugía de roedores. Por ello, para procedimientos quirúrgicos mayores debe asegurar la temperatura del animal mediante el uso de una manta eléctrica. Para prevenir quemaduras de contacto, separe al animal de la manta mediante el uso de paños estériles. Encienda la manta 30 minutos antes de la cirugía. Cubrir al animal con un paño estéril también ayuda a conservar el calor, pero asegúrese de que no ejerce una presión excesiva sobre el tórax. También se puede administrar fluidos atemperados a 37°C: Suero salino fisiológico o Lactato de Ringer (10ml/kg/h).
5. Prevención de la desecación de la córnea: Administrar un ungüento oftálmico en cirugías de más de 5 minutos de duración.
6. Sistema de anestesia inhalatoria: Compruebe* si:
 - a. Hay una bombona de oxígeno de reserva.
 - b. Hay una botella de Isoflurano de reserva.
 - c. La válvula de la bombona de oxígeno está completamente abierta.
 - d. El interruptor de oxígeno de emergencia de la máquina anestésica funciona correctamente.
 - e. El vaporizador está lleno de Isoflurano.
 - f. La cal sodada tiene la coloración adecuada.
 - g. Al hacer funcionar durante unos minutos todo el sistema con oxígeno hay alguna fuga.

* Nota: Consulte con el personal del SEA si tiene alguna duda o problema.

7. Monitorización: Parámetros mínimos a controlar:
 - a. Profundidad anestésica:
 - i. Sin vocalizaciones
 - ii. Sin movimientos en respuesta a estimulación quirúrgica

Título: Guía Anestesia y Analgesia en Ratón

Nº. 2.2.2.1

Fecha: 29/11/11

Pág. 3 de 8

- iii. Relajación muscular adecuada
- b. Patrón y frecuencia respiratoria
- c. Color de las mucosas: rosado

B. Elección de la técnica anestésica/analgésica adecuada:

La elección de la técnica anestésica y analgésica adecuada depende de:

- Severidad y tipo de intervención
- Edad y estado fisiopatológico del animal
- Cepa de ratón

En la Tabla B.1. se expone un resumen de las combinaciones anestésicas y analgésicas indicadas para los procedimientos experimentales más frecuentes.

En procedimientos donde se requiere un plano anestésico quirúrgico, dada la rápida y segura recuperación, el agente de elección es el Isoflurano, administrado mediante una máquina de anestesia inhalatoria.

Tabla B.1: Elección de la técnica anestésica/analgésica adecuada

Procedimiento	Anestesia			Analgésia mínima	
	Sedación	Anestesia local	Anestesia quirúrgica	Grado 1	Grado 2
Biopsia cola	O	X (Cl)		R	
Incisión en piel	O	R (Em/Cl en piel)	R	X	R
Canulación Vasos	O	R (Em/Cl en piel)	O	X	
Biopsias piel	O	X (Em/Cl en piel)		X	
Biopsia víscera		R (Em/Cl en piel)	X		X
Toracotomía		R (Em/Cl en piel)	X		X
Craneotomía		R (Lid. Periostio) R (Em/Cl en piel)	X		X
Laparotomía		R (Em/Cl en piel)	X		X
Cirugía Columna		R (Em/Cl en piel)	X		X
Cirugía Ortopédica		R (Em/Cl en piel)	X		X
Amputación miembros		R (Em/Cl en piel)	X		X

X: Obligatorio; O: Opcional en función de la severidad del procedimiento; R: Recomendado
 Cl: Cloruro de Etilo; Em: Crema anestésica EMLA®; Lid: Lidocaína

Título: Guía Anestesia y Analgesia en Ratón

Nº. 2.2.2.1

Fecha: 29/11/11

Pág. 4 de 8

Si necesitamos sedar al animal pero no necesitamos un plano anestésico quirúrgico en la tabla B.3. se muestran distintas combinaciones utilizadas en inmovilización/sedación.

Si vamos a realizar una cirugía invasiva y/o necesitamos un plano anestésico quirúrgico hay 3 opciones anestésicas recomendadas:

Opción 1: Anestesia inhalatoria con Isoflurano (Técnica de elección): Vea PNT 2.2.2.1.1

Opción 2: Anestesia inyectable con Ketamina-Xilacina (Recomendada en cepas cosanguíneas): Vea PNT 2.2.2.1.2

Opción 3: Anestesia inyectable con Ketamina-Medetomidina (Recomendada en cepas no cosanguíneas): Vea PNT 2.2.2.1.3

Tabla B.2. Anestésicos inhalatorios usados en ratón:

Fármaco	Dosis	Comentarios
Isoflurano (Isoflo®) De elección	4-5% para inducción 1-2% para mantenimiento	Inducción en cámara. El mantenimiento requiere el empleo de un vaporizador calibrado

Tabla B.3. Anestésicos inyectables y sedantes usados en ratón:

Fármaco	Dosis y Vía	Duración de la anestesia	Comentarios
Ketamina + Xilacina Recomendado	80-120mg/kg ket. IP + 5-16mg/kg xil. IP	30-45 minutos	La profundidad anestésica varía de sedación a anestesia
Ketamina + Medetomidina Recomendado	50-100mg/kg ket. IP + 0.5-1mg/kg med. IP	30-45 minutos	La profundidad anestésica varía de sedación a anestesia
Ketamina + Acepromacina	44mg/kg ket IP + 0.75mg/kg ace IP	20-30 minutos	Solo sedación
Ketamina + Diazepam	100mg/kg ket IP + 5mg/kg dia. IP	20-30 minutos	Sedación/ inmovilización
Ketamina	100mg/kg ket IP +	20-30 minutos	Inmovilización

Título: Guía Anestesia y Analgesia en Ratón

Nº. 2.2.2.1

Fecha: 29/11/11

Pág. 5 de 8

+ Midazolam	5mg/kg mid. IP		
Propofol	12-26mg/kg IV	5-7 minutos	Administración dosis-efecto o mejor bomba de infusión continua

Subcutáneo (SC), Intraperitoneal (IP), Intravenoso (IV)

Tabla B.4. Anestésicos locales usados en ratón:

Fármaco	Dosis y aplicación	Duración
Lidocaína	Diluir al 0.5%. Dosis máxima 7mg/kg. SC o Intraincisional	<1 hora. Inicio de acción rápido
Crema Emla®	Aplicar una capa gruesa en el área correspondiente	2 horas. Esperar 30' a que haga efecto
Cloruro de Etilo	Dirigir el chorro al área a anestesiarse durante 15-20 segundos a 30 cm de distancia. Aspecto blanco y endurecido de la piel	Indeterminada

Elección del protocolo analgésico en función de la severidad del procedimiento:

Tabla B.5. Analgésicos usados en ratón:

Fármaco	Dosis	Duración
Buprenorfina	0.1 mg/kg SC o IV	6-12 horas
Meloxicam	2 mg/kg PO o SC	12-24 horas
Paracetamol líquido	200 mg/kg IP o PO	Indeterminada

Subcutáneo (SC), Intraperitoneal (IP), Intravenoso (IV), Oral (PO)

En la tabla B.5. se establecen dos niveles de analgesia en función de la severidad del procedimiento:

- **Grado 1:** Para procedimientos que necesiten una analgesia de grado 1 usaremos fármacos antiinflamatorios no esteroideos de fácil administración:

Se recomienda el uso del **Cóctel Analgésico SEA** (Vea PNT 2.2.2.1.4) en el agua de bebida durante 72 horas: desde 24 horas antes del procedimiento hasta 48 horas después.

- **Grado 2:** El protocolo analgésico mínimo recomendado es el siguiente:

Título: Guía Anestesia y Analgesia en Ratón

Nº. 2.2.2.1

Fecha: 29/11/11

Pág. 6 de 8

- 1º. Inyección SC de Meloxicam 30 minutos antes de la cirugía.
- 2º. Inyección SC de Buprenorfina tras cirugía y cada 12 horas*, durante 48-72 horas (Vea PNT 2.2.2.1.5)
- 3º. Coctel analgésico SEA en el agua de bebida durante 96-120 horas tras la cirugía (se recomienda administrar el cóctel desde 24 horas antes de la cirugía).

*Opcionalmente, podemos reducir el número de inyecciones de Buprenorfina al animal y, tras realizar la primera inyección postquirúrgica, administrarla en forma de gelatina (Vea PNT 2.2.2.1.6)

C. Recuperación anestésica:

1. Reversión anestesia: Tras terminar la cirugía, es aconsejable revertir los fármacos anestésicos que posean antagonistas. Los agonistas α -2 adrenérgicos (Medetomidina y Xilacina) se revierten mediante el uso de Atipamezol, siempre que hayan pasado más de 20 minutos desde la última inyección de un fármaco de este grupo (Vea PNT 2.2.2.1.7). Del mismo modo, las benzodiazepinas (Diazepam y Midazolam) pueden revertirse con Flumacénilo.
2. Prevención hipotermia tal como viene definido en el punto A4.
3. Recuperación en sala de cirugía: Lo ideal es observar al animal en la misma sala de cirugía hasta que recupere la consciencia. Si es necesario trasladar al animal antes de que se haya recuperado debe cumplir con los siguientes requisitos:
 - a. Alojarse al animal individualmente
 - b. Monitorizar al animal frecuentemente hasta que recupere la consciencia

En general, y aunque el animal ya se haya recuperado totalmente, el hecho de estar alojado con otros individuos puede suponer un riesgo para la cicatrización de la herida quirúrgica, por ello, alojaremos al animal individualmente (salvo excepciones autorizadas previamente por un Responsable de Animalario o Técnico de Anestesia).

En determinadas ocasiones puede ser interesante proporcionarle al animal el alimento en el lecho, como en los casos en los que tenga dificultades para acceder a la rejilla. En el caso de animales debilitados se recomienda reblandecer el pienso con agua estéril y depositarlo en el lecho durante las 24-48 horas siguientes a la cirugía.

D. Resucitación de emergencia:

Título: Guía Anestesia y Analgesia en Ratón

Nº. 2.2.2.1

Fecha: 29/11/11

Pág. 7 de 8

Los intentos de recuperar a un ratón que ha recibido una sobredosis de anestésico o que tiene una parada respiratoria o cardíaca por cualquier motivo a menudo son infructuosos.

En el caso de que haya una parada cardíaca, ésta puede resolverse haciendo una compresión del 30-40% de la dimensión de la cavidad torácica en la zona que afecta al corazón a un ritmo lo más rápido posible. Para ello usaremos los dedos pulgar e índice. La inyección de adrenalina intratraquealmente también puede ayudarnos a revertir esta parada (vea tabla C.1).

La ventilación artificial es complicada en el ratón, pero es posible insuflar los pulmones periódicamente con una perilla y un tubo que englobe el área de la nariz. Además, en caso de depresión respiratoria es conveniente aplicar oxígeno con una mascarilla y administrar el estimulante respiratorio Doxapram (vea tabla D.1).

En general, las terapias de soporte en los casos de sobredosis de anestésico incluyen: resolver la posible hipotermia, administrar oxígeno con una mascarilla y utilizar fármacos que reviertan los agentes anestésicos tal como se describe en el punto C1. En el caso de agentes de rápida eliminación, como el isoflurano o el propofol, basta con cesar su administración tan pronto como detectemos cualquier problema cardiorrespiratorio.

Tabla D.1. Fármacos de Emergencia

Fármaco	Dosis	Comentarios
Doxapram	5-10 mg/kg IV o IM	Si persiste la depression repetir dosis en intervalos de 15 minutos
Adrenalina	0.01-0.02mg/kg IV, IT	Lo normal es no tener cateterizada una vía central, por ello se recurre a la vía intratraqueal

IV: Intravenoso; IM: Intramuscular; IT: Intratraqueal

Residuos generados:

- a. A depositar en los contenedores amarillos de material cortante/punzante:
- Agujas usadas
 - Frascos y ampollas de vidrio

Título: Guía Anestesia y Analgesia en Ratón		
Nº. 2.2.2.1	Fecha: 29/11/11	Pág. 8 de 8

- b. A depositar en el contenedor negro de residuos de riesgo en doble bolsa de basura:
- Jeringas

Referencias y bibliografía:

Flecknell, P. Anestesia de Animales de Laboratorio, 2ª Edición. Editorial Acribia, 1998.

Miranda HF, Puig MM, Prieto JC, Pinardi G. Synergism between paracetamol and nonsteroidal anti-inflammatory drugs in experimental acute pain. *Pain*. 2006 Mar;121(1-2):22-8. Epub 2006 Feb 9.

Qiu HX, Liu J, Kong H, Liu Y, Mei XG. Isobolographic analysis of the antinociceptive interactions between ketoprofen and paracetamol. *Eur J Pharmacol*. 2007 Feb 28;557(2-3):141-6. Epub 2006 Nov 14.

ULAM. Anesthesia and Analgesia in Mice. University of Michigan. 2005

Wixon Sally K.: Anesthesia and Analgesia, Ch. 6, in *The Biology of the Laboratory Rabbit*, 2nd ed, (PJ Manning, DH Ringler, Newcomer CE, eds), Academic Press, 1994.

Morton DB, Jennings M, Buckwell A, Ewbank R, Godfrey C, Holgate B, Inglis I, James R, Page C, Sharman I, Verschoyle R, Westall L, Wilson AB; Joint Working Group on Refinement. Refining procedures for the administration of substances. *Lab Anim*. 2001 Jan; 35(1):1-41.