




# Bioseguridad en Bioterio

Buenas prácticas de manejo,  
cuidado y uso de  
animales de laboratorio

ANLIS 2011



 Ministerio de Salud  
PRESIDENCIA DE LA NACION

### CRÉDITOS

PRESIDENTE DE LA NACIÓN  
**DRA. CRISTINA FERNÁNDEZ DE KIRCHNER**

MINISTERIO DE SALUD DE LA NACIÓN  
**DR. JUAN LUIS MANZUR**

SECRETARIO DE POLÍTICAS, REGULACIÓN E INSTITUTOS  
**DR. GABRIEL YEDLIN**

ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE LABORATORIOS E INSTITUTOS DE SALUD – ANLIS “DR. CARLOS G. MALBRAN”  
**INTERVENTOR DR. GUSTAVO RIOS**

COORDINACIÓN GENERAL  
**LUCIANA VAZQUEZ**

COORDINACIÓN TÉCNICA Y OPERATIVA  
**LIC. DANIELA MELE**  
**LIC. HECTOR NUÑEZ**  
**LIC. LUCIANO FIGALLO**

COLABORACIÓN ESPECIAL  
**DR. ALEXIS EDELSTEIN**  
**LIC. ARIEL VILARDO**  
**BIOQ. LEONORA NUSBLAT**

# ÍNDICE

## **xx INTRODUCCIÓN**

## **xx Capítulo 1. ANIMAL DE LABORATORIO Y DISEÑO EXPERIMENTAL.**

## **xx Capítulo 2. ESTANDARIZACIÓN SANITARIA.**

- xx** Documentación
- xx** Estado sanitario del animal
- xx** Animales genéticamente definidos
- xx** Animales modificados genéticamente
- xx** Obtención de animales
- xx** Animales capturados en la naturaleza
- xx** Especies en peligro
- xx** Transporte, importación y exportación
- xx** Clasificación microbiológica de animales
- xx** Microorganismos que interfieren en la investigación. Ejemplos específicos

## **xx Capítulo 3. ÉTICA EN EL USO DE ANIMALES.**

- xx** El dilema ético
- xx** El principio de las tres R
- xx** Requerimientos bioéticos de la experimentación animal

## **xx Capítulo 4. BUENAS PRÁCTICAS.**

- xx** Técnicas de sujeción y de procedimientos
- xx** Administración de sustancias
- xx** Extracción de sangre
- xx** Eutanasia
- xx** Bienestar animal

## **xx Capítulo 5. BIOSEGURIDAD CON ANIMALES.**

- xx** Niveles de Bioseguridad.
- xx** Barreras de Bioseguridad.
- xx** Barreras primarias.
- xx** Barreras secundarias.
- xx** Barreras terciarias.
- xx** Análisis de riesgo

## **xx Capítulo 6. DISEÑO DE BIOTERIOS.**

- xx** Controles de Ingeniería
- xx** Ubicación
- xx** Servicios mecánicos
- xx** Diseño
- xx** Divisiones funcionales importantes
- xx** Seguridad

**xx Capítulo 7. ESTANDARIZACIÓN AMBIENTAL.**

- xx** Ventilación
- xx** Temperatura
- xx** Humedad
- xx** Iluminación
- xx** Ruido

**xx Capítulo 8. LEGISLACIÓN PARA EL USO DE ANIMALES EN LABORATORIOS.**

- xx** El derecho del animal
- xx** Particularidades del animal transgénico
- xx** Contenidos mínimos para una ley reguladora del uso de animales en laboratorios

## INTRODUCCIÓN

La Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud “Dr. Carlos G. Malbrán” - ANLIS es un organismo descentralizado dependiente de la Secretaría de Políticas, Regulación e Institutos del Ministerio de Salud de la Nación que nuclea a once Institutos, Centros y Unidades.

La ANLIS, como efector del Ministerio de Salud, tiene como misión fundamental entender en las políticas científicas y técnicas vinculadas con distintos aspectos sustantivos de las acciones sanitarias en el ámbito público.

Las acciones para llegar al cumplimiento de las mismas se realizan a través de múltiples mecanismos que posee la organización y que es necesario perfeccionar y actualizar conforme la realidad sanitaria y las políticas nacionales de salud.

En el marco del Plan Estratégico ANLIS<sup>1</sup>, la institución se propuso, como organización sanitaria y científica especializada, encontrar, proponer y proveer mejoras sustanciales en salud pública; además de ejecutar funciones sanitarias críticas como vigilancia, investigación y desarrollo, producción de insumos biológicos, entre otras. Como se estableció en dicho Plan, se ha trabajado intensamente durante los últimos años en la búsqueda de soluciones a sus nudos críticos, siendo la Bioseguridad y la Bioética uno de los ejes identificados en las problemáticas institucionales.

Este documento busca contribuir con el conocimiento de aquellos aspectos sustantivos relacionados con el trabajo en el Bioterio como la Bioética y la Bioseguridad, las Buenas Prácticas y recomendaciones en el cuidado, manejo y uso del animal de laboratorio. Para ello se han utilizado varias fuentes destacadas y seleccionadas, parte del material que constituye el mismo, intentando diseñar una herramienta práctica y útil de referencia para el personal que trabaje con animales.

En el desarrollo del mismo se abordan lineamientos filosóficos básicos a fin de abrir espacios de discusión sobre las implicaciones éticas en la generación y el uso del conocimiento científico y tecnológico, así como aquellos componentes que comprenden el análisis y la gestión de los riesgos relativos a la vida, la salud de las personas, los animales y el medio ambiente.

El objetivo propuesto es contar con un instrumento marco tanto para el personal que trabaja en bioterios de producción y experimentación animal, como para el investigador que los utiliza; del mismo modo, orienta y favorece la adopción de buenas prácticas de laboratorio, promueve la difusión de conocimientos y la asunción de responsabilidades.

En síntesis, esta publicación pretende establecer pautas mínimas para lograr un ámbito seguro de trabajo y constituirse en una herramienta de capacitación institucional para el manejo y uso de animales de laboratorio.

---

1 [http://www.anlis.gov.ar/Plan\\_Estrategico\\_ANLIS-\\_Distribuido.pdf](http://www.anlis.gov.ar/Plan_Estrategico_ANLIS-_Distribuido.pdf)

# ANIMAL DE LABORATORIO Y DISEÑO EXPERIMENTAL

Existen varias definiciones para referirse al término de animal de laboratorio o de experimentación; una síntesis de las mismas conduce al siguiente concepto:

*“El animal de laboratorio es aquel que se emplea para obtener conocimiento, para lograr algún beneficio y proteger al hombre sin causar daños en otras especies ni en su misma especie; debiendo ser engendrado, producido y mantenido en un entorno con condiciones controladas, que posee claros antecedentes genéticos y microbiológicos y existe una comprobación sistemática de los mismos”.*

**Animal de Laboratorio = Animal de Experimentación = Biomodelo Experimental**

El animal para experimentación, se considera un biomodelo experimental para la investigación científica, fundamentalmente con el uso controlado en el laboratorio para propósitos científicos y médicos.

**La ciencia utiliza los animales de laboratorio, principalmente para:**

- Investigar procesos biológicos en los seres humanos y en los animales.
- Estudiar las causas de las enfermedades.
- Testear fármacos, vacunas y técnicas quirúrgicas.
- Evaluar la seguridad de algunas sustancias químicas empleadas entre otros.

Un modelo animal se define como un organismo viviente con una característica tendencia natural para desarrollar procesos patológicos inducidos o espontáneos que de una u otra manera semejan el mismo fenómeno ocurrido en el humano.

Un aspecto fundamental en la investigación es la elección de la especie del animal de laboratorio, no solamente para que el proceso se realice correctamente sino para que, incluso en algunos casos, sea posible llevarla a cabo.

Sería absurdo realizar un estudio sin considerar previamente la anatomía y fisiología del animal escogido.

Entre los animales más utilizados en una investigación y por ende los mayormente reproducidos en los Bioterios de Argentina, son el **ratón, rata, conejo, hámster y cobayo**. Otros animales que se usan en menor medida como modelos experimentales son: chimpancés, gato, perro, peces, tortugas, cerdos, aves en general, ranas, hurones, cabras, ovejas, bovinos, equinos, chinchilla y armadillo.

**Diseño de un proyecto de investigación con animales:**

Al momento del diseño la elección de especie debe ser objeto de detenido examen y, en el caso de utilizar alguna especie que no sea recomendada o que se encuentre en extinción, se debe exponer su motivo a la autoridad responsable.

En el procedimiento se deberá realizar un análisis estadístico previo para calcular la cantidad mínima de animales (n) que se deben utilizar; se deberán utilizar las técnicas que causen menos dolor, sufrimiento, angustia o daños duraderos y tengan más probabilidades de dar resultados satisfactorios.

El diseño de los experimentos que utilizan animales de laboratorio exige la definición detallada de las características genéticas y ambientales, es decir, del dramatis personae de los mismos. Sólo así, utilizando animales definidos y estandarizados, se obtendrán resultados reproducibles.

**Los resultados de un experimento que utilice animales, además del modelo animal elegido, dependen de:**

- a. La constitución física y el estado inmunológico del animal:** de tal forma que el manejo adecuado de los fármacos depende de factores subjetivos y objetivos que actúan en

forma diferente en cada sujeto de experimentación.

- b. El manejo de los animales:** siendo vital la participación del técnico encargado de los animales, y el grado que un mal manejo puede invalidar un experimento.

Todos los métodos utilizados deben gozar de selectividad, aplicación rápida y ser preferentemen-

te indoloros. En ocasiones, cuando lo requiere, se debe aplicar anestesia local.

Se deben minimizar las variables no-experimentales optimizando el uso de los animales en un estudio determinado; considerando que las condiciones ambientales en que se crían y experimentan, influyen decisivamente en las respuestas a los distintos tratamientos.

# ESTANDARIZACIÓN SANITARIA

Los animales que se utilizan para investigación, experimentación y docencia deberán ser microbiológica y genéticamente definidos, a fin de garantizar la validez de los resultados.

**Los animales de laboratorio deben tener ciertas cualidades controlables desde el punto de vista experimental, para que sean homogéneos en tres aspectos:**

- a. **Somático:** peso, forma, sexo, etc.
- b. **Genético:** por su igualdad o similitud biológica.
- c. **Sanitario:** sin gérmenes (axénicos), gérmenes controlados (gnotoxénicos) o normales sanos.

## DOCUMENTACIÓN

Todos los animales deberán ir acompañados por documentación que indique su procedencia, es decir, documentos veterinarios, datos sanitarios y relativos a la raza, al estatus genético y a la identificación del animal.

## ESTADO SANITARIO DEL ANIMAL

El estado sanitario de los animales puede influenciar significativamente los resultados científicos y ser motivo de inquietud respecto a la salud y seguridad en el trabajo. El perfil sanitario de los animales deberá ser apropiado para el uso previsto y su estado sanitario deberá conocerse antes de iniciar la investigación.

## ANIMALES GENÉTICAMENTE DEFINIDOS

Los animales definidos genéticamente se utilizan para responder a preguntas específicas de la investigación y son el producto de programas de reproducción sofisticada y controlada que deberán ser validados por un seguimiento genético periódico. Se deberá contar con una documentación detallada y precisa de los registros de reproducción de la colonia.

Utilizar en un estudio un perfil genético conocido puede reducir la variabilidad en los datos experimentales resultantes de una deriva genética e incrementar la duplicación de los resultados.

## ANIMALES MODIFICADOS GENÉTICAMENTE (TAMBIÉN ANIMALES TRANSGÉNICOS O MODIFICADOS MEDIANTE INGENIERÍA GENÉTICA) O CLONADOS

Los animales genéticamente modificados son aquellos que han sido sometidos a cambios de sus genomas nucleares o mitocondriales debido a una intervención humana deliberada, o la descendencia de dicho animal o animales, si han heredado dicha modificación.

El uso de animales transgénicos o clonados deberá realizarse con arreglo a la normativa en vigor. Será necesario satisfacer y evaluar las necesidades en materia de cría y bienestar de esos animales y de aquellos que han heredado mutaciones espontáneas y mutagénesis inducida y que se consideran de riesgo.

Se debe llevar registros de los requisitos en materia de biocontención, información genética y fenotípica e identificación individual; los cuales serán comunicados por el proveedor de los animales al receptor.

## OBTENCIÓN DE ANIMALES

La adquisición de los animales deberá efectuarse legalmente. De preferencia, se adquirirán en instituciones reconocidas que suministren y garanticen animales definidos.

Siempre que sea posible, se usarán animales criados en función de la investigación y se evitará usar otros, a menos que se cumpla con una justificación científica o que constituyan la única fuente disponible y apropiada.

A menudo se utilizan animales de granja, razas y especies no tradicionales y animales capturados en la naturaleza para alcanzar los objetivos específicos de estudio.

## ANIMALES CAPTURADOS EN LA NATURALEZA

Si se utilizan animales silvestres, deberá recurrirse a una técnica de captura sin crueldad y con el debido respeto de la sanidad, bienestar animal y seguridad del hombre y del animal.

- Los estudios de campo pueden alterar el hábitat



y afectar desfavorablemente, tanto a la especie estudiada como a las demás.

- La importancia de estas perturbaciones deberá evaluarse y reducirse.
- Los efectos de una serie de factores de estrés (como captura, manejo, transporte, sedación, anestesia, marcado y muestreo) pueden acumularse y acarrear consecuencias graves y hasta fatales.

Las fuentes potenciales de estrés y la gestión de planes para eliminar o reducir la angustia deberán formar parte de la propuesta de proyecto.

### ESPECIES EN PELIGRO

Las especies en peligro de extinción deberán utilizarse únicamente en circunstancias excepcionales cuando existan sólidas razones científicas que justifiquen que los resultados deseados no pueden alcanzarse empleando otras especies.

### TRANSPORTE, IMPORTACIÓN Y EXPORTACIÓN

El transporte de los animales debe efectuarse en condiciones adecuadas a sus necesidades fisiológicas, comportamentales y su estado sanitario; y debe garantizarse una contención física apropiada de los mismos, así como la exclusión de contaminantes.

La duración del transporte deberá reducirse al mínimo. Es importante, además, verificar que la etapa del transporte está bien organizada, que existe personal identificado y responsable de los animales y que se adjunta la información pertinente sobre cada animal para evitar retrasos innecesarios durante el transporte desde el lugar del envío hasta el centro de recepción.

**Riesgos de contaminación:** Para reducir estos riesgos de los animales con microorganismos infecciosos no deseados o parásitos que puedan comprometer la sanidad de los mismos o incapacitarlos para la investigación, regularmente deberá determinarse y evaluarse el estado microbiológico del animal.

Deberán aplicarse las medidas adecuadas de contención para mantener el estado de sanidad y, si es necesario, deberán tomarse las medidas oportunas para prevenir el contacto con humanos o comensales del ambiente. Concisamente, reside en generar y mantener animales libres de organismos contaminantes (virus, bacterias, parásitos y hongos) que puedan intervenir en la investigación o la eficiencia de las colonias.

<b>Posibles vías de contaminación las cuales hay que controlar:</b>	
<b>Animales silvestres</b>	- Instalaciones que eviten la entrada de cualquier animal silvestre como roedores, pájaros, insectos. - Aberturas mínimas: puertas, ventanas, desagües. - Barreras.
<b>Otros animales de laboratorio</b>	Adquisición de animales en otros centros/ Universidades.
<b>Materiales y equipo</b>	- Cama. - Agua. - Jaulas y racks o estanterías. - Aire. - Material quirúrgico.
<b>El personal</b>	El hombre es sin duda, el factor más importante en la transmisión de microorganismos contaminantes. Puede actuar como vector después del contacto con animales contaminados y también puede ser de forma temporal el huésped de microorganismos potencialmente patógenos para los animales de laboratorio.
<b>Procedimientos Operativos Estandarizados -POEs</b>	El desarrollo e implementación de los POEs es de suma importancia; ya que su seguimiento refuerza las Buenas Prácticas de laboratorio, refiriéndose al tránsito, tanto de las personas como de los materiales, del trabajo en el laboratorio y/o bioterio y procedimientos de mantenimiento y uso de equipos.

**Los patógenos, por controlar en los animales de laboratorio, serán de acuerdo a la clasificación microbiológica de los mismos basada en la presencia o ausencia de microorganismos patógenos.**

## CLASIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA DE ANIMALES

Se han establecido cinco categorías:

**Categoría I: Animal haloxénico (tradicionalmente convencional).** Son animales mantenidos sin ningún proceso especial (instalaciones abiertas) tradicionalmente llamados convencionales. Deben estar libres de toda evidencia de enfermedades infecciosas, especialmente las trasmisibles al hombre, tanto en el examen clínico como en el post mórtem. Se refiere a las siguientes entidades biológicas:

- Toda Salmonella y Shigella.
- Mycobacterium tuberculosis.
- Yersinia pseudotuberculosis.
- Leptospira spp.
- Dermatofitos.
- Sarcoptes scabiei.
- Virus de la coriomeningitis linfocitaria (LCM).

**Categoría II: Animal miroxénico.** Son comparables a los animales convencionales mantenidos bajo condiciones sanitarias estrictas y estándares. Albergan una fracción inoculada de microorganismos no patógenos tomados de la microbiota de un haloxénico; deben mantener o ser del mismo estatus de la Categoría I y además estar libres de:

- Listeria monocytogenes.
- Bacillus piliformis (Clostridium piliformis).
- Estadios intermedios de céstodos y de artrópodos parásitos obligados.
- Especies determinadas demandan la ausencia de los virus: Ectromelia (ratón) y Myxomatosis (conejo).

**Categoría III: Animal gnotobiótico con microbiota definida.** Son comparables a los animales derivados de cesárea (axénicos) a los que se les introduce voluntariamente especies microbianas conocidas. Deben ser del mismo estatus de la Categoría II y además estar libres de:

- Bordetella bronchiseptica.
- Toda Pasteurella.
- Todas las Coccidias (Eimerias spp) y helmintos patógenos.

**Además, especies determinadas demandan la ausencia de:**

- Streptobacillus moniliformis (ratones y ratas).
- Corynebacterium kutscheri (C. murium) (ratones).
- Streptococcus pneumoniae (cobayo y conejo).
- Todas las especies de Mycoplasma (ratones y ratas).
- Treponema cuniculi (sífilis del conejo/conejo).

**Categoría IV: Animal heteroxénico.** Son comparables a los animales descritos como libres de gérmenes patógenos específicos (Specific Pathogens Free, SPF). Estos son derivados de un axénico o gnotobiótico que adquiere una microbiota proveniente de su medio, son mantenidos en zonas protegidas (sistemas cerrados). Deben ser del mismo estatus de la Categoría III y además estar libres de:

- Estreptococos (excepto grupo D).
- Neumococos.
- Helmintos.
- Protozoos patógenos.
- Virus que afectan a estas especies.

Además, especies determinadas demandan la ausencia de:

- Todas las especies de Mycoplasma (hamster y cobayo).
- Fusiformis necrophorus (conejos).

**Categoría V: Animal axénico.** Son animales que no albergan ninguna especie microbiana viviente detectable. Se deben mantener sistemas cerrados estériles y se encuentran libres de todo organismo demostrable (virus, bacterias, hongos, parásitos y organismos saprófitos). Se les conoce como animales Germ Free o axénicos, los cuales son derivados por histerotomía (cesárea) o histerectomía aséptica, criados y mantenidos en un aislador mediante técnicas gnotobióticas. Estos animales no siempre se obtienen en la práctica, debido a los agentes transmitidos verticalmente.

Este esquema de clasificación por categorías ha sido sujeto a revisiones regulares y a pesar de algunos cambios menores en cuanto al establecimiento y definición de las entidades microbianas que deben o no estar presentes (bacterias, hongos, parásitos y virus) según la categoría específica, ha resistido la prueba del tiempo.

La estandarización sanitaria es relevante por cuanto las infecciones espontáneas o patologías interfieren de múltiples maneras en la investigación, en:

- Una alteración de los resultados experimentales.
- La muerte en los animales.
- La contaminación de reactivos biológicos.

### MICROORGANISMOS QUE INTERFIEREN EN LA INVESTIGACIÓN. EJEMPLOS ESPECÍFICOS

**Salmonella enteritidis:** Bacilo Gram – coloniza T. digestivo. El serotipo más común que produce enfermedad en ratas y ratones *S. typhimurium*.

Organotropismo: Intestino delgado, intestino grueso, hígado, bazo.

Efectos que produce/n:

- Suprime el crecimiento de tumores transplantables.
- Reduce la glucemia y enzimas hepáticas en sangre.

- Niveles de enzimas intestinales reducidas.
- Aumento en la proliferación de las células de la cripta.
- Disminución de la incorporación de aminoácidos a proteínas.
- Alteraciones en el metabolismo de la glucosa.

**Virus Sendai:** RNA pertenece a la familia Paramyxoviridae, afecta rata y ratón y tiene un cuadro clínico en general inaparente.

Organotropismo: Pulmón.

Efectos que produce/n:

- Potente inmunosupresor de la inmunidad humoral.
- Altera la acción de los macrófagos causando retrasos en la cicatrización.
- Altera el crecimiento de tumores transplantables.
- Puede producir variantes de células tumorales.

**Virus de la Hepatitis del Ratón (MHV):** Es un Virus RNA perteneciente a la familia de los Coronaviridae, se han detallado 25 cepas. Es un virus altamente contagioso, y en su forma subclínica puede permanecer en la colonia en donde los adultos son asintomáticos.

Efectos que produce/n:

- Contamina tumores transplantables.
- Induce patrones anormales de invasión de tumores.
- Provoca rechazos de Xenoinjertos de tumores.

## ÉTICA EN EL USO DE ANIMALES EN LABORATORIOS

El uso de animales en laboratorios compete a todos los individuos, pero fundamentalmente, a las personas involucradas en la investigación biológica; desde el técnico auxiliar que está a cargo del cuidado de los animales hasta los responsables de mayor jerarquía de la institución productora o usuaria de los mismos.

El propósito de este apartado es establecer los aspectos más relevantes del debate bioético, como acuerdo mínimo de orientación filosófica para la eva-

luación de los proyectos de investigación y desarrollo que se apoyan desde esas instituciones. Con la intención de favorecer al desarrollo del potencial ético de la persona en sus diversos desempeños - como investigador y como miembro de una comunidad- el énfasis de los contenidos abordados está puesto en la construcción de la conciencia bioética, con la convicción de que las prácticas deben estar fundamentadas en un conjunto de valores asumidos con responsabilidad.

La Bioética, entendida como un conjunto de orientaciones filosóficas y metodológicas, guía los procesos y decisiones en las investigaciones científicas, sociales y humanísticas, con el propósito de alcanzar el bien. Todo ello como resultado del debate que incorpora la diversidad y pluralidad del pensamiento en pro del resguardo y respeto a la vida, fundamentados en principios y normas básicas que han sido tomadas de la filosofía y de la práctica humana.

El objetivo de la bioética es educar y buscar la transformación del hombre para el ejercicio del bien como resultado de una acción reflexiva, consciente y responsable. En el caso de que en los procesos de investigación ocurran daños a personas, animales u otros organismos vivos y al ambiente, serán aplicadas las leyes penales vinculadas a esos delitos, vigentes en el país.

No obstante, el esfuerzo mayor en bioética debe ir dirigido a la formación de un criterio moral asumido desde la responsabilidad, lo cual constituye el espíritu que le dará legitimidad al accionar de quienes trabajan con animales.

### EL DILEMA ÉTICO

El dilema ético en la experimentación animal está en relación con la posible contraposición entre dos valores. Por un lado, el atentar a la sensibilidad de los animales y la posibilidad de daño que pueden llegar a sufrir en el propio experimento y, por otro lado, la necesidad de estos experimentos, pues son vitales para la protección de los humanos, e incluso, para la salud y seguridad de los propios animales.

En este escenario surge una situación contra-

ditoria que la Declaración de Wolfensohn & Lloyd (1995:11)<sup>1</sup> resume del siguiente modo:

***“Todo uso de animales en la investigación científica para el beneficio humano crea una dilema - la justificación para el uso de los animales depende de que sea diferente de la humana, mientras que la validez de los resultados obtenidos depende de la similitud de los animales y sus respuestas a las de los humanos”.***

Como consecuencia de esto existe un amplio espectro de activistas y defensores de los animales, diferenciados en dos tendencias éticas extremas:

Por un lado, quienes sostienen que los animales deben gozar de una máxima libertad para recorrer y vivir en por todo el planeta. Estos grupos se oponen a que cualquier animal, en cualquier circunstancia,

<sup>1</sup> WOLFENSOHN, S. & LLOYD, M., 1995. Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare. Oxford: Oxford University Press. ([http://www.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-311X1999000500011](http://www.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X1999000500011))

sea sometido a un experimento en un laboratorio. A este grupo también pertenecen activistas moderados en su opinión que adhieren a que los animales reciban un mejor trato, que no sufran en los criaderos y que, de ser utilizados en experimentos, sean cuidados escrupulosamente.

En el otro extremo están los que se oponen a toda protección de los animales en este ámbito; niegan, incluso, que los animales tengan sentido del dolor, del placer y de la muerte; afirman que la benevolencia para con los animales no humanos dificulta la solidaridad con los animales humanos e, incluso, es incompatible con ella.

Dentro de esta posición se reprocha a los defensores de los animales no preocuparse por el número de animales muertos, ni por las condiciones en que mueren: la muerte de un animal por ingestión de raticida es más desagradable que su muerte en el laboratorio, tras haber sido anestesiado.

El animal de experimentación es una de las piezas fundamentales en la biomedicina, tanto en los proyectos de investigación como en las pruebas diagnósticas y en los controles de productos farmacológicos; consecuentemente:

Los animales deben usarse únicamente si contribuye en forma efectiva a la mejor comprensión de principios biológicos fundamentales, o al desarrollo de conocimientos que, razonablemente, podemos esperar que beneficien a los seres humanos o a los animales y cuando el investigador haya buscado sin encontrar con éxito una alternativa aceptable.

### PRINCIPIO DE LAS “TRES R”

En el año 1959, los científicos ingleses W. M. Russell y R. L. Burch escribían en su libro Principio de las “Tres R”<sup>2</sup> que la excelencia científica y el uso humanitario de los animales de laboratorio estaban fuertemente ligados. En dicho tratado describieron por primera vez el hoy conocido lema de las tres «R» en el uso de animales de experimentación: reducción, refinamiento y reemplazo.

El **Reemplazo** de animales conscientes por animales no conscientes o materiales no sensibles; difícil en algunos casos, pero posible en otros con el avance de las pruebas químicas y microbiológicas:

- Sistemas in vitro.
- Invertebrados.
- Ayudas audiovisuales.
- Material Humano.
- Animales muertos.
- Voluntarios Humanos.
- Material de mataderos.
- Técnicas modernas.

El **Refinamiento** de los experimentos que involucra aquellos métodos que alivian o minimizan el dolor potencial y la angustia para mantener el bienestar del animal:

- Cuidado y Bienestar Animal.
- Destrezas y capacitación del personal.
- Perfeccionamiento de métodos para detectar dolor.
- Uso de anestésicos, analgésicos y tranquilizantes.
- Uso de técnicas no invasivas o telemétricas.
- Uso de radiografías (tomografías) para detectar tumores o deterioro orgánico.
- Aplicar eutanasia anticipada - Punto final.

La **Reducción** en el número de animales utilizados, sin disminución de la precisión; a fin de obtener los mismos resultados con menor número de animales:

- Selección del modelo animal.
- Calidad sanitaria, genética y ambiental.
- Criopreservación.
- Metodología Bioestadística avanzada.
- Banco de datos: publicación de resultados negativos para no repetir.
- Acceso a literatura especializada.

El seguimiento de estos aspectos en la literatura científica ha puesto en evidencia un uso ineficiente de animales debido al pobre diseño experimental, al inapropiado análisis estadístico de los resultados o a ambas causas. Cabe destacar que el número de animales utilizados debe ser el mínimo necesario para poder evaluar la hipótesis y dar resultados estadísticamente útiles.

<sup>2</sup> RUSSELL WMS, & BURCH RL(1959): The principles of humane experimental technique. London, Methuen.

La adhesión a este principio, el intercambio continuo de conocimientos y la revisión de literatura deben ser la base de todo diseño experimental. Los investigadores que usan animales deberían emplear con ellos los métodos más humanitarios posibles, hacer que el número usado sea el menor posible y que sólo sea requerida la especie apropiada para poder obtener una información válida.

De igual importancia, podríamos agregar una **4ta R, de Responsabilidad**, la cual imprime un compromiso en la acción, la cual se nutre de una deliberada reflexión y convicción, y se diferencia de la simple obediencia o cumplimiento de deberes.

Ser responsable significa responder, por un lado, al llamado de los valores éticos que la persona asume como individuo y como miembro de una sociedad, y por el otro, ante las consecuencias de sus decisiones.

Actualmente, la responsabilidad ha alcanzado relevancia no sólo en el sentido personal, sino que se ha ampliado al compromiso con los demás y con las generaciones futuras.

Las personas pueden asumir diversas actitudes:

- a. Responsable, cuando se impone un criterio reflexivo en el comportamiento.
- b. Responsiva, cuando se actúa por impulso o por un aprendizaje automático.

- c. Irresponsable, cuando se actúa sin tomar en cuenta las consecuencias de las acciones.

Tanto en Bioética como en Bioseguridad, la responsabilidad constituye el fundamento que sustenta los principios de estos ámbitos. El investigador es responsable de sus actos y sus consecuencias, debe justificar lo que va a hacer dando explicaciones y razones de sus planteamientos ; lo cual debe ser evaluado por un Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio – CICUAL.

En otras palabras, es reconocida la necesidad de experimentación e investigación, pero se sostiene que el progreso científico no es motivo suficiente para justificar cualquier tipo de experimento.

El respeto a los derechos humanos y el bienestar de la persona sujeto de investigación deben prevalecer siempre sobre los intereses de la ciencia y de la sociedad.

Estos fundamentos filosóficos constituyen puntos de referencia para orientar las decisiones, no obstante es necesario destacar que no siempre podrán ser aplicables simultáneamente en cada caso.

Por lo tanto si surge conflicto o contradicción en la aplicación conjunta de estos principios, será necesario ponderarlos y decidir en función del mayor peso asignado. La ponderación será entonces un proceso de deliberación racional para determinar

### EL USO DE LA EXPERIMENTACIÓN ANIMAL PUEDE EXPLICARSE POR LAS SIGUIENTES RAZONES:

- No se puede aplicar directamente en el ser humano muchos descubrimientos científicos sin una previa comprobación en un ser vivo.
- Se necesita conocer la cantidad y calidad de los nuevos descubrimientos, y comprobarlo en un número adecuado de elementos vivos comparables con el ser humano, para conseguir una validez estadística.
- La experimentación humana en las primeras fases de una nueva investigación puede ser censurable, aunque lógicamente, una vez superada esta primera fase, tenga que realizarse sobre voluntarios para verificar realmente su utilidad.
- En el campo de la investigación biomédica se utilizan modelos animales para experimentación, pero esto debe hacerse apreciando el valor de estas especies, asegurándose de su protección, respeto y cuidado, utilizando la mínima cantidad de animales que sea posible. Se puede saber la valía de un investigador observando el refinamiento de las técnicas antes de aplicarlas en animales.
- El uso de animales en la investigación, enseñanza y pruebas, es aceptable solamente si contribuye en forma efectiva a la mejor comprensión de principios biológicos fundamentales o al desarrollo de conocimientos que, razonablemente, pueden beneficiar a los seres humanos.

### EL ARGUMENTO COSTO-BENEFICIO Y SU INCIDENCIA EN ASPECTOS ÉTICOS.

Uno de los criterios centrales ha sido siempre el de costo-beneficio, no en el sentido económico, sino en términos de conocimiento; o sea, qué conocimiento se ha obtenido a costa de los sufrimientos infligidos a los animales de laboratorio.

Además, desde otra perspectiva, la investigación con animales tiene un costo económico elevado; en muchos casos, ese costo se soporta con financiamientos públicos. De allí que la reiteración de experimentos que se sabe positivamente inútiles encuentra otro obstáculo adicional. Para evitar costos y sufrimientos inútiles se propicia dar información de las experiencias fracasadas e, incluso, tener un área u organismo nacional, y por qué no regional, que concentre y distribuya dicha información.

cuáles obligaciones morales prevalecen en cada situación concreta.

### REQUERIMIENTOS BIOÉTICOS DE LA EXPERIMENTACIÓN ANIMAL

La disciplina científica requiere que, periódicamente, se revisen los datos obtenidos con el trabajo realizado durante una etapa, para validar o rectificar los procedimientos elegidos. Según el criterio del Consejo Nacional de Investigación (National Research Council – NRC) Institute of Laboratory Animal Resources (ILAR)<sup>3</sup> algunos de los aspectos más importantes a tener en cuenta para cualquier proyecto que involucre la utilización de animales serán:

#### • Instrucción y capacitación del personal profesional y técnico:

El personal debe reconocer que los cuidados que rodean al animal influyen en forma directa sobre el resultado de los experimentos y, que el estado sanitario de los animales está íntimamente ligado a su capacidad de respuesta. De esta última inquietud nace el uso de animales en Condiciones Libres de Patógenos Específicos- Specific Pathogen Free o SPF y Libres de Gérmenes -Germ Free o GF, lo que brinda resultados experimentales confiables y reproducibles.

#### • Condiciones de alojamiento:

Resalta la importancia de la carga animal por caja

– si bien existe actualmente una tendencia a aumentar el espacio por animal e inclusive, a estimular sus actividades por medio de ruedas u otros accesorios y las constantes ambientales controladas. Las temperaturas extremas, la falta de renovación del aire, las altas concentraciones de amoníaco, entre otras variables, someten a los animales a sufrimientos innecesarios e invalidan los resultados desde el punto de vista experimental.

#### • Buenas prácticas de sujeción, analgesia, anestesia y eutanasia:

Como para todo ser vivo se ha de considerar que el animal de laboratorio es sensible a cualquier procedimiento capaz de causar dolor en el hombre.

Las investigaciones básicas y aplicadas y los trabajos de manufactura y control de medicamentos y vacunas que utilizan animales de laboratorio deberían ajustarse a los principios de Buenas Prácticas de Manufactura -BPM y de Buenas Prácticas de Laboratorio -BPL.

<sup>3</sup> ILAR desarrolla guías y divulga información sobre aspectos científicos, tecnológicos y éticos de la utilización de los animales y recursos biológicos relacionados con la investigación científica, las pruebas de laboratorio y la educación. ILAR promueve la alta calidad en el cuidado humanitario de los animales y el empleo apropiado de los mismos y de sus alternativas; el mismo funciona bajo la misión de la National Academy of Sciences como asesor del gobierno federal, de la comunidad científica biomédica y del público.

## BUENAS PRÁCTICAS

El mantenimiento de los animales en buen estado de salud, depende en mayor parte de que el personal adopte Buenas Prácticas de Laboratorio- BPL para mantener las barreras sanitarias con continuidad en el tiempo.

- El ratón tiene que pasar por un tiempo de adaptación (cuarentena), desde su adquisición hasta su uso, con el objetivo de tener ratones menos estresados y más sanos, que proporcionen un mejor resultado experimental.
- Los animales deben recibir alimento en cantidad y calidad suficiente para sus necesidades y para conservar la salud.
- El agua debe ser renovada en forma total, diariamente o cada dos días, eliminando todo contenido residual del frasco de bebida.
- El material del lecho o cama seleccionado, deberá transportarse y almacenarse en sacos o envases de plástico, cerrados aislados del piso, sobre tarimas, de modo que permita mantener la calidad y evitar la contaminación.
- El área de eliminación de desechos debe proveer espacio para el almacenaje apropiado de material relacionado con los animales, excrementos, camas sucias, cadáveres, materiales peligrosos, etc.
- Los materiales de limpieza deberán ser exclusivos de cada una de las salas y mantenerse en buenas condiciones de uso, para evitar que actúen como vectores de microorganismos.

A continuación se refieren las principales técnicas de laboratorio: manipulación, inoculación, extracción, y eutanasia; señalando las recomendaciones a tener en cuenta para refinar procedimientos con el fin de evitar sufrimiento innecesario.

Siendo esencial por razones humanitarias, y a la vez, para obtener resultados científicos fiables y reproducibles.

### TÉCNICAS DE SUJECCIÓN Y DE PROCEDIMIENTOS

La habilidad para sujetar animales de laboratorio no se adquiere fácilmente. Puede tomar varias horas



de práctica en solamente una especie para convertirse en un profesional. Para conseguir este propósito se recomienda:

- Buscar información acerca de las técnicas de sujeción de las especies de interés en libros, filmes u otra documentación.
- Observar personal con experiencia en el desarrollo del procedimiento.
- Un aspecto a aprender cuando se sujeten diferentes especies, es el observar señales de peligro de ataque por el animal.
- Los aparatos de sujeción deberán de ser usados solo cuando sea necesario, ya que pueden causar daño físico al animal.
- Debe de evitarse poner a los animales sobre superficies resbaladizas por la posibilidad de que se atemorizan y se hieran a sí mismos.

La mayoría de los animales pequeños se tranquilizan rápidamente facilitándose la sujeción cuando ésta se hace de una manera firme sin apretar demasiado. Esto les da una sensación de seguridad. Si un animal se siente inseguro, incómodo o atemorizado, es casi seguro que luchará para librarse, lo que usualmente puede causar heridas al animal o quien lo sujeta.

### ADMINISTRACIÓN DE SUSTANCIAS

Los procedimientos que se utilicen en la administración de sustancias a animales pueden tener un



efecto significativo sobre su bienestar al igual que en el valor científico de los resultados. Si se llevan a cabo incorrectamente, ambos pueden verse comprometidos. Al refinar los procedimientos de administración, por lo tanto, se proporcionan oportunidades para mejorar a la vez el bienestar y la ciencia. Los beneficios del bienestar son ampliamente reconocidos; los beneficios científicos se derivan de una mayor precisión de los datos obtenidos cuando los experimentos se preparan más cuidadosamente, usando animales menos estresados.

*Cuando se administra una sustancia a un animal por cualquier vía, el objeto debe ser conseguir la mejor práctica, puesto que los errores en cualquier estadio pueden provocar un sufrimiento evitable y/o un gasto de animales vivos. La mejor práctica se basa en minimizar o evitar efectos adversos, disminuir cuando se pueda el número de animales utilizados y maximizar la calidad y aplicabilidad de los resultados.*

### Planificación y preparación:

La probabilidad de que surjan dificultades se reduce con una adecuada preparación, por lo que debe tenerse previsto un plan de contingencias por si ocurrieran problemas.

#### a. Objetivo experimental:

Los objetivos científicos deben alcanzarse por la vía y el régimen de administración seleccionado, aspecto que ha de plantearse en primer lugar. Debe considerarse que tipo de resultados van a obtenerse, junto con el modo en que se relacionan al propósito del estudio y que se hará con los resultados y con los animales.

Debe considerarse no solamente si el experimento puede hacerse, sino también si debe ser realizado, dado los posibles efectos sobre el animal.

#### b. La vía:

La elección de la vía se encuentra determinada por:

- Propósito del experimento.
- Especie animal seleccionada.
- Posibles efectos adversos de la técnica de

administración seleccionada.

- Frecuencia de dosificación esperada.
- Selección de la vía que menos interaccione con los objetivos experimentales (vía menos estresante).

#### c. La técnica:

Es muy importante estudiar la técnica antes de llevarla a cabo y obtener información bibliográfica y/o de otros expertos sobre ella. Algunos factores concretos a considerar son:

- Si la técnica y no la sustancia, es la que tiene algún efecto sobre el animal.
- Si el equipo a utilizar es el más apropiado.
- Si la frecuencia de administración puede ser reducida.
- Si los elementos de punto final están claramente definidos y son humanitarios.

### CARACTERÍSTICAS DE LA SUSTANCIA A INOCULAR:

Se deben tener en cuenta las propiedades físico-químicas (formulación, pureza, pH, solubilidad, viscosidad, biodisponibilidad); como también las soluciones y disolventes; y la tasa de absorción.

### CARACTERÍSTICAS DEL MODELO ANIMAL SELECCIONADO:

- Especie, razas, cepas y sub-cepas seleccionadas.
- Sexo y edad
- Entrenamiento del personal y habituación de los animales

### EXTRACCIÓN DE SANGRE

La sangre se extrae de los animales para una gran variedad de propósitos. Los científicos han de reflexionar si el proceso puede ser innecesariamente estresante para un animal, sencillamente por el trato, el tipo de anestesia o la incomodidad se asocia a una determinada técnica. Los cambios fisiológicos en relación al incremento de tensión (estrés) pueden incluso invalidar los resultados.

Hay varias reglas generales que se aplican a cualquier procedimiento que se lleve a cabo en un animal. Si no se observan, es probable que estos procedimientos no tengan éxito, tanto desde el punto

de vista del bienestar del animal como de la validez científica.

- Asegurarse que el operador tenga la práctica necesaria.
- Si se tiene duda sobre el procedimiento o la técnica pedir consejo.
- Disponer de todo el material, antes de tomar y preparar el animal, pre-etiquetar todos los contenedores.
- Contar con la ayuda de un asistente familiarizado con el animal concreto, tal como un técnico en animales, siempre que sea necesario.
- Ser suave y firme con el animal.
- No dejar nunca un animal desatendido.
- Si hay cualquier complicación que pueda comprometer la salud del animal solicitar asesoramiento al Veterinario, o a la Persona Designada para el Cuidado Diario, o alguien experimentado con el tema.
- Si ocurre un accidente y el procedimiento presenta errores, saber cómo sacrificar humanamente un animal y tener disponibles los medios para hacerlo.
- Poder reconocer los efectos adversos en las especies con las que se trata y saber cómo aliviarlos.
- Recordar que una vena se colapsará si la muestra se toma demasiado deprisa, por lo tanto asegurar un ritmo adecuado.
- Cerciorar siempre que el animal se ha recuperado satisfactoriamente del procedimiento.

Como orientación aproximativa, hasta un 10% del volumen de sangre circulante puede ser extraída en una sola ocasión de animales normalmente sanos y bien nutridos con efectos adversos mínimos. No obstante el animal experimentará un efecto posterior aunque no muestre ninguno.

## EUTANASIA

Los criterios primordiales para la eutanasia en términos de bienestar animal, son que el método sea indoloro, consiga una rápida inconsciencia y muerte, requiera una mínima inmovilización, evite la excitación, sea apropiado para la edad, especie y salud del animal, debe de minimizar el miedo y el estrés en el animal, ser fiable, reproducible, irreversible, sencillo de administrar (en dosis pequeñas si es posible) y seguro para el operador. Y en la medida de lo posible, debe ser estéticamente aceptable para el operador.

Para asegurar la eutanasia, es importante reconocer los signos de dolor, temor y angustia en las especies más relevantes. Todo el personal debe entrenarse en el reconocimiento de estos signos de sufrimiento en las especies con las que estén trabajando. La valoración de estos factores debe basarse fundamentalmente en las observaciones de conducta anormal y en respuestas fisiológicas que demuestren ansiedad y temor.

**Eutanasia:** Significa muerte buena y debería considerarse como un acto de sacrificio humanitario con el mínimo dolor, temor y angustia.

En todos los procedimientos experimentales, debe incluirse un protocolo de supervisión de los animales que permita aplicar medidas paliativas de dolor, como la utilización de analgésicos o el sacrificio por razones humanitarias.

A modo de ejemplo, se muestra la Planilla de Monitoreo individual de animales: valoración del dolor post – inoculación, utilizada en el BSL3A de la UOC-CB.

La misma está basada en distintas tablas de valoración del dolor de las cuales se tomaron los aspectos más importantes de los animales a controlar, dividiéndolos en categorías y sub-categorías, de acuerdo al protocolo al cual fue aplicada.



A las mismas se les asignó un puntaje, (en este caso 1 – 2 – 3), y una ponderación de acuerdo con el impacto que tengan con el procedimiento realizado (en este caso 0.05 – 0.25 – 0.7); para así obtener una valoración total adecuada para poder analizar el estado de dolor de los animales y así decidir cómo proceder, como por ejemplo se muestra en la siguiente tabla:

Categorías	I			II			III			IV			V			VALORIZACION TOTAL
Sub – categorías	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	
Puntaje	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	
Ponderación	0.05	0.25	0.7	0.05	0.25	0.7	0.05	0.25	0.7	0.05	0.25	0.7	0.05	0.25	0.7	
FECHA																VALORIZACION TOTAL
-	x			x			x			x			x			0.25 = caso a
-	x			x			x				x			x		1.15 = caso b
-	x			x			x			x					x	2.3 = caso c
-	x			x			x					x			x	4.35 = caso d
-			x			x			x			x			x	10.5 = caso e

a-  $0.05 \times 5 = 0.25 =$  mejor valoración.

Todas las categorías obtienen el menor puntaje, indicando un estado normal del animal.

b- Mayor o igual a 1.15 = monitorización técnica y/ o veterinaria.

Al menos dos categorías obtienen la puntuación media.

c- Mayor o igual a 2.3 = monitorización técnica y/ o veterinaria y evaluación de eutanasia.

Al menos una categoría obtiene la puntuación más alta, o todas las categorías obtienen la puntuación media.

d- Mayor o igual a 4.35 = evaluar eutanasia.

Al menos dos categorías obtienen la puntuación más alta.

e- 10.5 = peor valoración.

Todas las categorías obtienen el mayor puntaje, debiendo realizar obligatoriamente la eutanasia del animal.

## BIENESTAR ANIMAL:

**“ES UN ESTADO DE COMPLETA SALUD MENTAL Y FÍSICA, DONDE EL ANIMAL ESTÁ EN PERFECTA ARMONÍA CON EL AMBIENTE QUE LO RODEA”**

El investigador debe ser el primer velador del bienestar del animal que emplea, consciente de las consecuencias que puede tener el malestar como efecto distorsionado de sus resultados.

La Asociación Americana de Medicina Veterinaria - AVMA (*American Veterinary Medical Association*) plantea que *“todos los aspectos de bienestar animal incluyen: el alojamiento apropiado, el manejo, la alimentación, el tratamiento y la prevención de enfermedades, el cuidado responsable, la manipulación humanitaria y, cuando sea necesario, la eutanasia humanitaria.”*

Para mejorar el bienestar animal es imprescindible contar con una serie de recursos apropiados, al igual que con un análisis de la conducta, tanto de los animales como de los efectos que los juegos y recursos de enriquecimiento ambiental producen en ellos. Este sistema funciona cuando notamos un cambio positivo en la conducta del animal o grupo. Las claves en el momento de desarrollar cualquier trabajo de Enriquecimiento Ambiental son el análisis, el estudio y la documentación.

Enriquecimiento ambiental es mejorar la calidad de vida, tanto física, sensorial o de grupo de los animales en cautividad, recreando en ellos conductas y comportamientos semejantes a las de un animal sano en libertad. Todo esto de muchas maneras, por ejemplo mejoras en sus instalaciones, aplicación de juegos como esconderle la comida para que tenga que encontrarla, el establecimiento de pautas en la alimentación o la formación de grupos sociales. Con este tipo de acciones es factible disminuir comportamientos y conductas negativas como estereotipias (como los típicos recorridos repetitivos), tics gestuales o actos violentos contra si mismos o contra el grupo fuera de contexto.

Corresponde ofrecerles estímulos nuevos regularmente para que los animales conserven su capacidad de adaptarse a cambios de entorno y estrés, ya que esto es lo que hacen los animales en plena naturaleza, como esconderse y huir de predadores la búsqueda de comida, la época de celo.

Para finalizar, un buen protocolo de enriquecimiento ambiental aplicado es una de las mejores herramientas para reducir patologías y conductas anormales, estereotipias, para mantener a los animales en buenas condiciones físicas y psicológicas, tal y como deberían estar si vivieran en libertad.



## BIOSEGURIDAD CON ANIMALES

La Bioseguridad surge como una de las temáticas de mayor relevancia en la comunidad científica porque implica el análisis y la gestión de los riesgos relativos a la vida y la salud de las personas, los animales y las plantas y los riesgos conexos para el medio ambiente. Su ámbito de conocimiento se orienta directamente al control y la prevención del riesgo biológico derivado de manipulación de agentes biológicos en las instalaciones donde se trabaja.

En el trabajo del Bioterio, en los estudios de toxicología preclínica, la manipulación de agentes patógenos condiciona la existencia de prácticas y equipos seguros para su uso minimizando los riesgos. Cuando se trabaja con animales de laboratorio el riesgo se incrementa ya que está influido, entre otras cosas, por la actividad intrínseca del animal, la posibilidad de traumas por arañazos o mordeduras y el aumento de aerosoles.

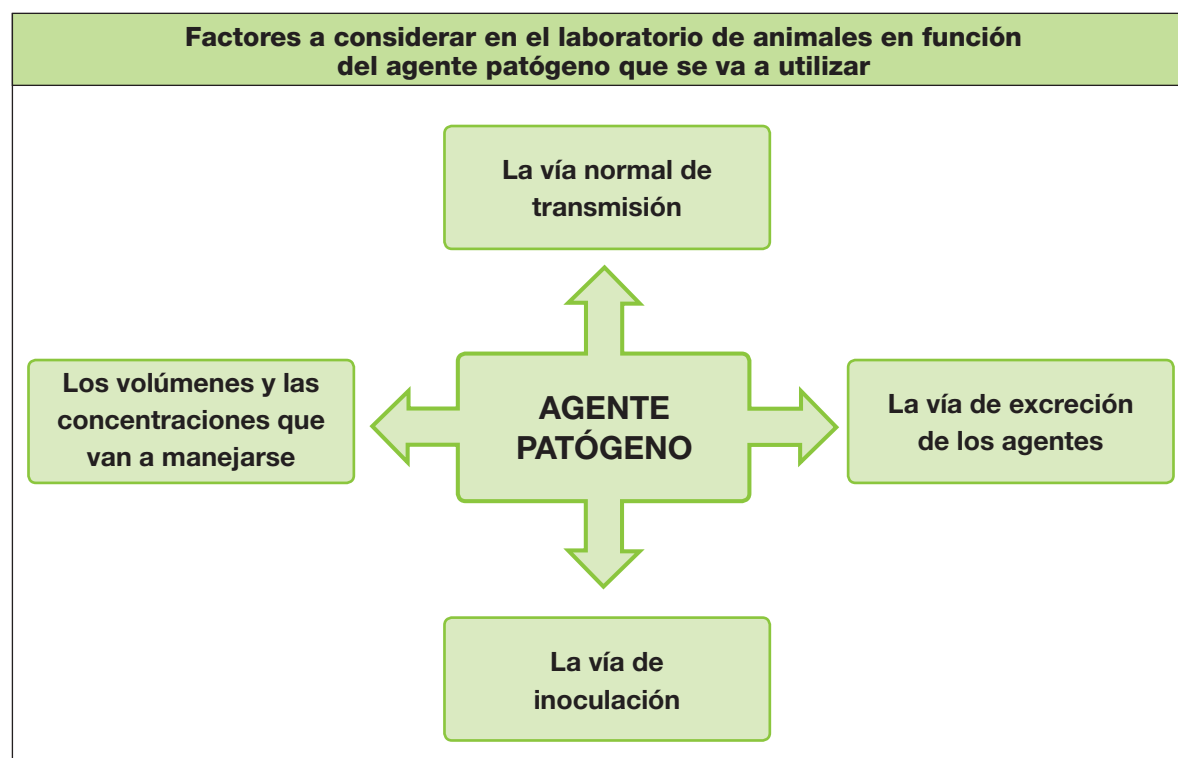
El elemento más importante de la Bioseguridad es el correcto cumplimiento de las buenas prácticas de trabajo, o sea el estricto cumplimiento de los procedimientos y el uso eficiente de materiales y

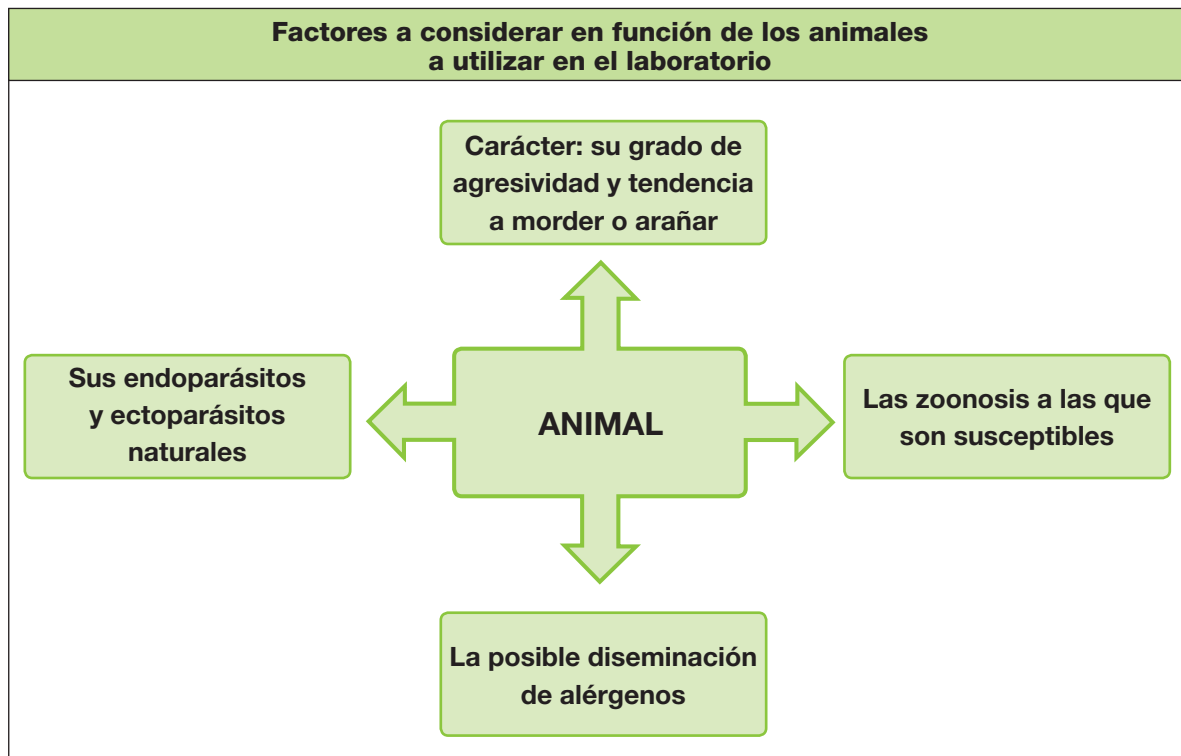
equipos, los cuales constituyen una barrera de contención física para el personal y el medio ambiente.

Ya desde el momento de recibir los animales en el Bioterio, se debe contar con un certificado del proveedor que avale su calidad genética y microbiológica, lo que indica que están libres de agentes patógenos. De todos modos, al trabajar con animales se potencia el riesgo debido al propio movimiento y/o desplazamiento de ellos, y más aún cuando es necesario el uso de agentes biológicos, entre los que podemos mencionar la *Leptospira*, *Bordetella pertussis*, *Neisseria meningitidis*, etc;

Por ello es fundamental tener en cuenta algunos aspectos básicos de la contención, que no es más que el conjunto de normas, procedimientos, mecanismos, adecuaciones físicas y puestos de trabajo, para evitar la difusión de los agentes biológicos infecciosos.

Al igual que los laboratorios, los Bioterios pueden clasificarse en cuatro niveles de bioseguridad, con arreglo a una evaluación del riesgo y al grupo de riesgo al que pertenecen los microorganismos investigados.





En el caso de los invertebrados, el nivel de bioseguridad de las instalaciones vendrá determinado normalmente por el grupo de riesgo del agente estudiado o según lo que indique la evaluación del riesgo. No obstante, con ciertos artrópodos, en particular los insectos voladores, se necesitan algunas precauciones especiales:

- Ubicar locales separados para los invertebrados infectados y no infectados.
- Posibilidad de sellar los locales para ser fumigados.
- Contar con pulverizadores de insecticidas.
- Disponer de instalaciones de «enfriamiento» para reducir, cuando sea preciso, la actividad de los invertebrados.
- El acceso debe ser a través de un vestíbulo provisto de mosquiteros en las puertas y trampas para insectos.
- Todos los conductos de salida de la ventilación y las ventanas que puedan abrirse deben estar equipados con mosquiteros.
- Todos los residuos se deben descontaminar en la autoclave, ya que algunos invertebrados son resistentes a algunos insecticidas.
- Se debe controlar el número de larvas y formas

adultas de artrópodos voladores, reptadores y saltadores.

- Los recipientes para garrapatas y ácaros se deben depositar en cubetas con aceite.
- Los insectos voladores infectados o potencialmente infectados se albergarán en jaulas de doble puerta.
- Los artrópodos infectados o potencialmente infectados se manipularán en Cabinas de Seguridad Biológica- CSB o cámaras aislantes.
- Los artrópodos infectados o potencialmente infectados podrán manipularse en bandejas de enfriamiento.

### NIVELES DE BIOSEGURIDAD

Han sido establecidos cuatro Niveles de Bioseguridad de Animales -ABSL por el CDC<sup>1</sup> y el NIH<sup>2</sup> en el Libro de Bioseguridad en Laboratorios de Microbiología y Biomedicina - BMBL.

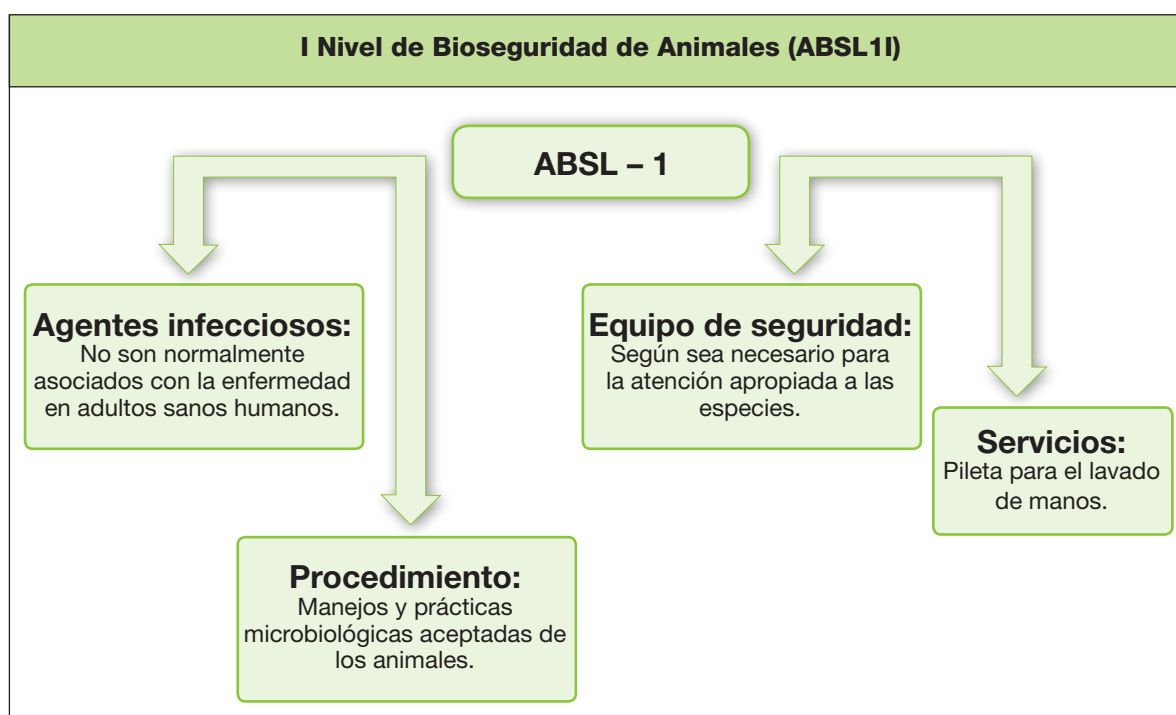
<sup>1</sup> Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades del Gobierno de Estados Unidos - (Centers for Disease Control and Prevention - CDC)

<sup>2</sup> Institutos Nacionales de Salud del Gobierno de Estados Unidos - (National Institutes of Health-NIH)

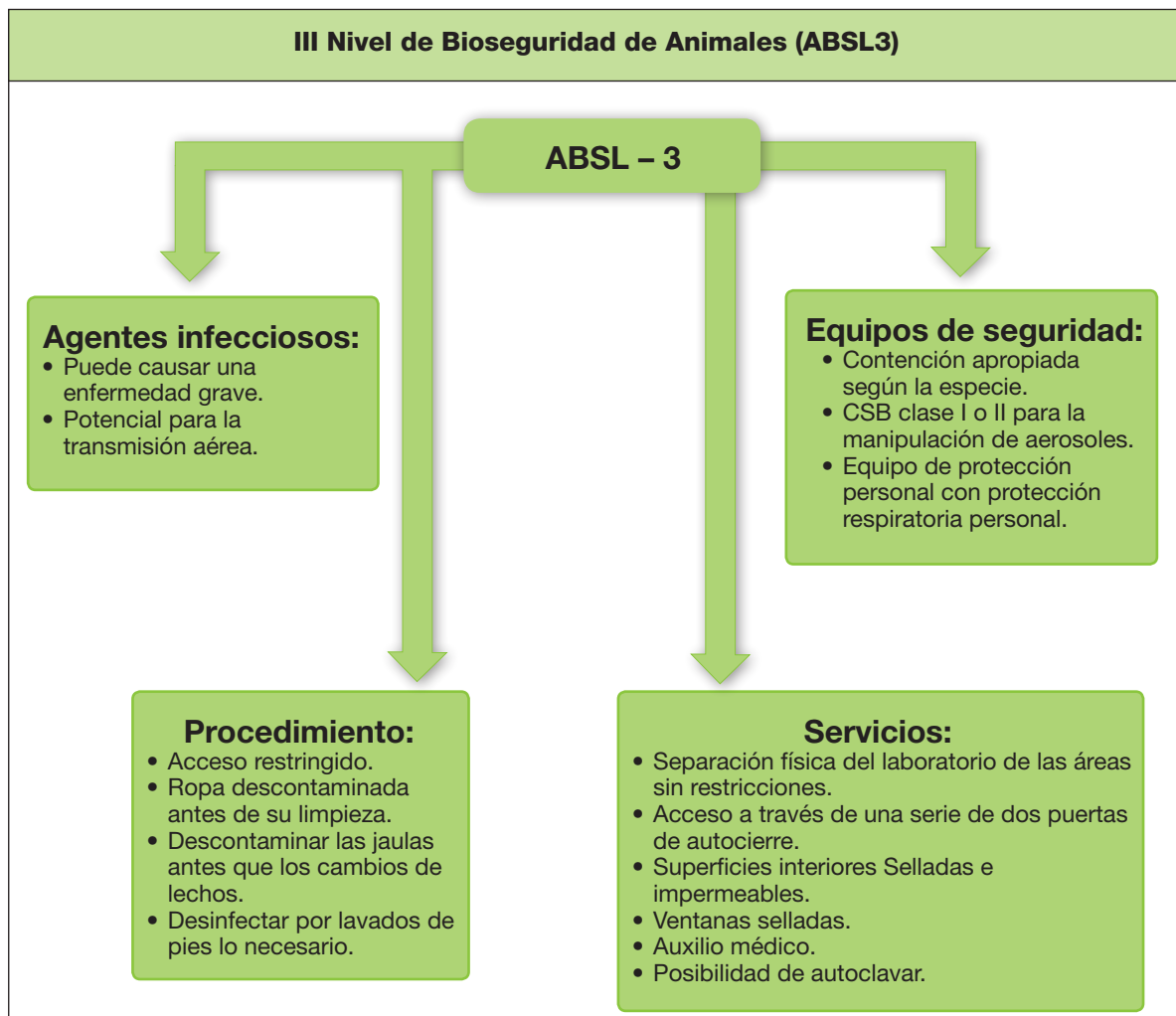
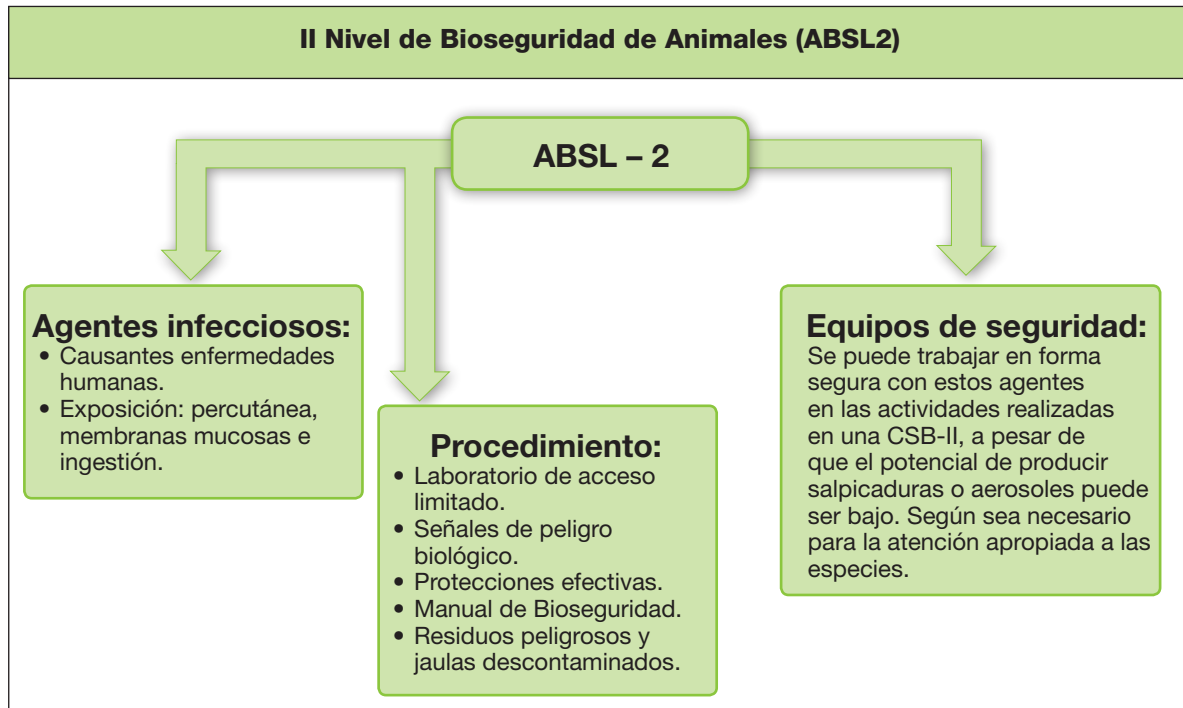
Dichos niveles se determinan de acuerdo a combinaciones de prácticas y técnicas microbiológicas, equipos de seguridad y diseño de instalaciones de laboratorios para el trabajo con microorganismos infecciosos o potencialmente infecciosos.

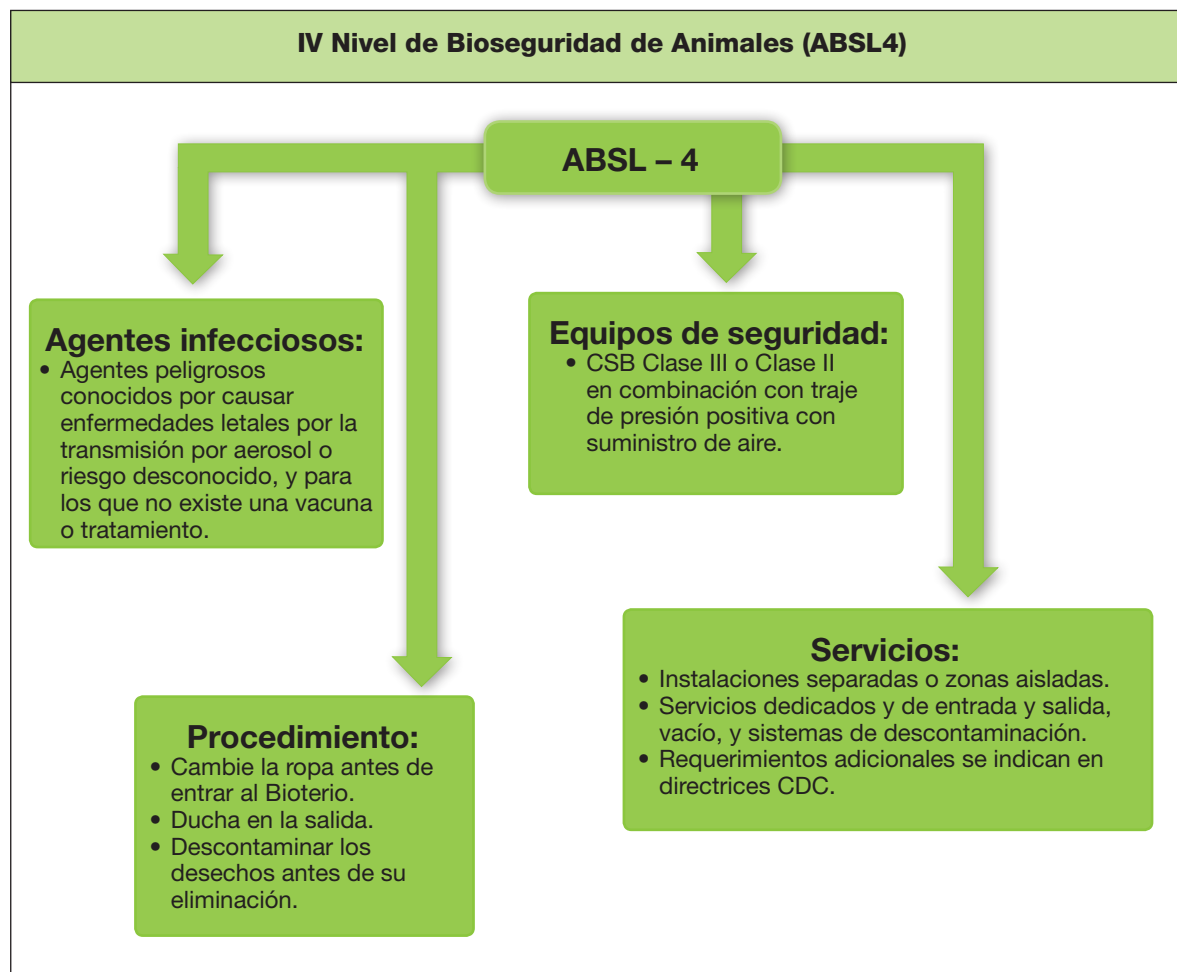
Cada nivel de combinación es apropiado para las operaciones a realizar, conforme las vías de transmisión de los agentes infecciosos documentados o

sospechados y a la actividad de laboratorio. Al igual que en los laboratorios, los requisitos relativos a las características de diseño, de equipamiento y sobre las precauciones para el Bioterio, son cada vez más estrictos en la medida que aumenta el nivel de seguridad. Las directrices son acumulativas; es decir, cada nivel incorpora los requisitos de los niveles inferiores.









No obstante lo expresado, es necesario realizar un análisis de riesgo al momento de encarar una tarea, ya que todo nivel de riesgo de un patógeno no necesariamente se corresponde con el nivel de bioseguridad del laboratorio establecido.

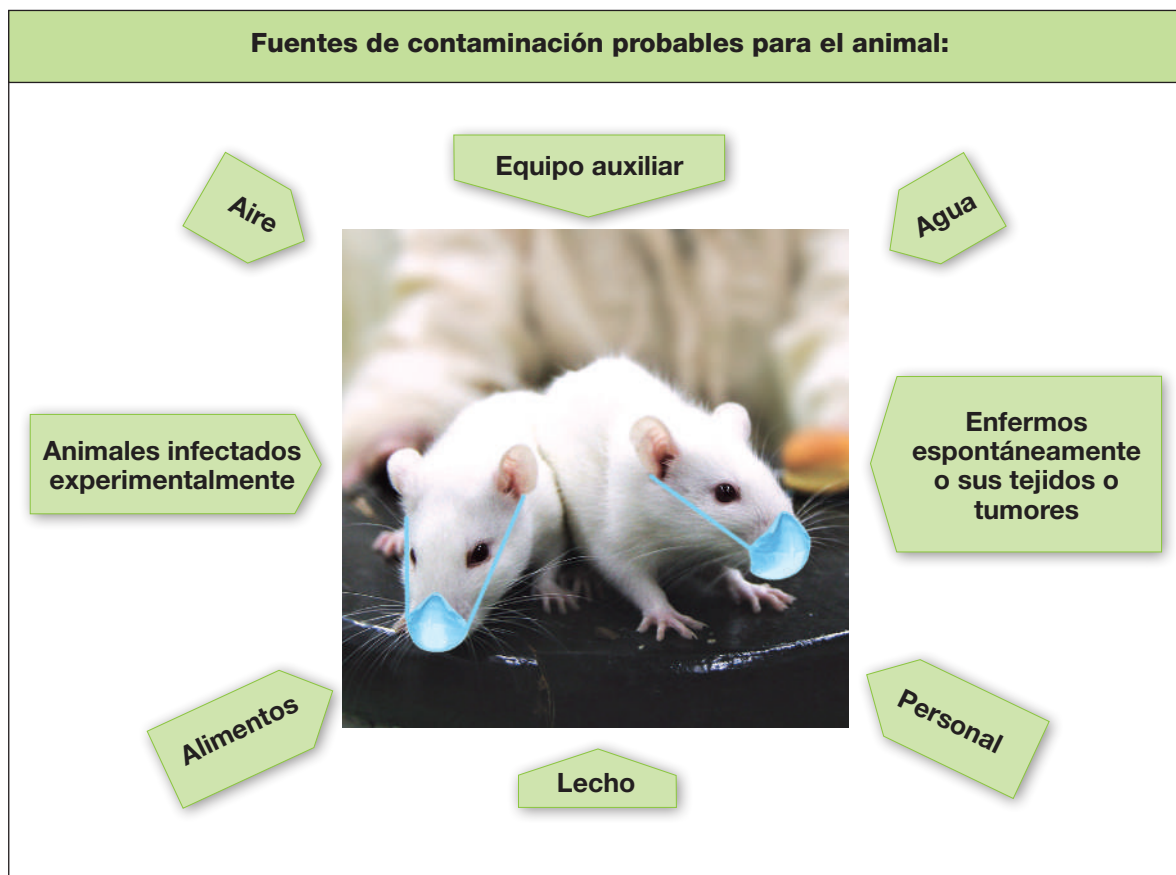
*La elección de las medidas de bioseguridad a aplicar depende, entre otras cosas, del volumen del patógeno a manipular, del nivel de bioseguridad del laboratorio con que se dispone, de la especie animal con que se va a trabajar, de los equipos e instalaciones que se dispongan y de la práctica que se vaya a realizar.*

### BARRERAS DE BIOSEGURIDAD

Las denominadas barreras de bioseguridad son implementadas para garantizar la seguridad y protección del personal y animales. La Biocontención son aquellas medidas cuyo objetivo es proteger al personal y al ambiente de los animales, y también a éstos del ambiente y otros seres vivos que los rodean.

La utilización de animales para experimentación implica el uso de instalaciones especiales, que van desde corrales para animales de granja hasta jaulas para pequeños roedores, ubicadas en un ambiente cerrado y controlado.

El correcto uso de equipos e instalaciones en investigación animal, protegen al personal, al animal y al medio ambiente de riesgos químicos, físicos y biológicos. En todo momento se debe garantizar el bienestar animal, como así también la obtención de resultados fiables y reproducibles, evitando la duplicación innecesaria de ensayos.



Para minimizar la introducción de microorganismos indeseables, es necesario tener un correcto mantenimiento y gestión de las instalaciones y ejercer una vigilancia constante de las mismas.

*La mejor forma de evitar contaminación es a través de barreras físicas, pero también incluyendo una adecuada separación de áreas, rutinas de limpieza, desinfección y minimizando el tránsito de personas externas. De la misma manera, es preciso generar y mantener una correcta segregación, programación y planificación de actividades.*

**Barreras primarias:** Las barreras primarias son las localizadas en torno al origen del riesgo, contenedores, el uso de equipos y del material correcto, y que se realice una buena práctica.

Estas incluyen los Elementos de Protección Personal – EPP la indumentaria como guantes, protección ocular y respiratoria y el uso de Cabinas de

Seguridad Biológica –CSB, según categorías (clase I, clase II y clase III) para manipulación de agentes peligrosos o necropsias de animales infectados, aisladores o rack ventilados para alojar animales. En la mayoría de las ocasiones se practica la combinación de ambos tipos de medidas.

La utilización de **EPP** es apropiado en función de la protección del trabajador mediante el empleo de un elemento o prendas de uso personal.

En la actualidad existe una variedad de equipos que ofrecen un alto grado de protección, pero eso no significa que el EPP reemplace una Buena Práctica de Laboratorio. Asimismo, el empleo de un equipo equivocado crea un riesgo adicional al generar un falso sentido de seguridad.

El EPP se seleccionará en función del máximo nivel de riesgo que se espera encontrar al desarrollar la actividad. Cualquier EPP exige un tratamiento apropiado.

El personal debe usar los elementos de protección de barrera adecuados al realizar cualquier actividad asociada con agentes biológicos.

La **CSB Clase II**, (**Figura 1**) que se utiliza típicamente en BSL-2 y BSL-3, proporciona protección de los materiales que se manipulan en el interior del gabinete respecto de la contaminación externa.



Figura 1: CSB Clase II

El aire del cuarto se dirige a la parrilla delantera de la CSB, (**Figura 2**) proporcionando la protección del personal. Además, el descenso del aire del flujo laminar, filtrado por filtros HEPA que suministra protección al personal y al producto, minimizando la posibilidad de contaminación cruzada a lo largo de la superficie de trabajo del gabinete.



Figura 2: Pistola de humo

Dado que el aire del gabinete va hacia abajo, por

encima, y fuera de la superficie de trabajo, y luego pasa a través de un filtro HEPA certificado, está libre de contaminación y puede ser parcialmente reciclado y/o totalmente expulsado fuera del edificio.

El aire de la cabina de seguridad biológica para gas de Clase III (**Figura 3**) proporciona el mayor nivel de protección al personal y el medio ambiente y debe ser utilizado en para niveles de alto riesgo o cuando éste es desconocido.



Figura 3: CSB Clase III

Las jaulas de contención biológica, utilizadas para albergar a los animales, son un sistema de racks que proporciona una separación absoluta de los animales de su entorno externo; variando según el modelo el grado de aislamiento.

Es un sistema totalmente o parcialmente cerrado, dependiendo del tipo de jaula, con un circuito de aire unidireccional que posee filtros HEPA a la entrada y salida del mismo.

La operación del rack puede ser a modo de presión negativa o positiva aislando cada jaula de las otras jaulas y del ambiente, ofreciendo al usuario final un nivel superior de contención que evita la contaminación micro y macro del ambiente.

Cuando las jaulas se retiran, la estantería en sí misma es una fuente potencial de contaminación, por lo que hay que esforzarse para mantener la contención y preservar la filtración.

**FILTROS HEPA:** Las CSB disponen de dos sistemas que impiden la salida de contaminación: las barreras de aire y los filtros. Las barreras de aire se crean permitiendo que éste fluya en una sola dirección y a una velocidad constante dando lugar a una cortina de aire que se conoce como flujo de aire laminar; es un flujo con ausencia de turbulencias. Los filtros HEPA (por sus siglas en inglés High Efficiency Particulate Air), fabricados generalmente de láminas de fibras de borosilicato, tienen como finalidad atrapar las partículas contenidas en este flujo de aire, los utilizados comúnmente son HEPA que retienen partículas con una eficacia del 99,97% y hasta 0,3 micras de diámetro o más.

Para esto las jaulas cuentan con inyección y extracción de aire independiente por jaula, a modo de ejemplo se muestra en las siguientes imágenes (**Figuras 4, 5 y 6**):



Figura 4: Jaula.....



Figura 5: .....



Figura 6: .....

Para ese momento, la trayectoria del flujo de aire filtrado HEPA es crítica.

Todas las conexiones entre los filtros HEPA y el sistema de suministro de aire deben ser rígidamente cerrados, sin oportunidad de una ruptura en las conexiones o conductos. Los filtros HEPA deben certificarse y retirarse de peligro, debido a que son casi exclusivamente construidos con papel.

**Los filtros HEPA sólo deben lavarse o manipularse por personal experto.**

Cabe mencionar, que se pueden añadir al sistema otros niveles de protección, tales como un primer filtro en el nivel de la jaula, y luego seguir protegiendo la integridad del sistema manteniendo las partículas fuera de la jaula, al nivel del rack y válvulas de escape, a fin de garantizar un sello continuo (esto también prolonga la vida útil del filtro HEPA).

Este tipo de “pre-filtro” puede ser utilizado como un método de toma de muestras del medio ambiente de la jaula.

Para seleccionar los estudios, o como un complemento al programa de vigilancia de la salud animal, el pre-filtro puede ser transferido, con los mismos animales, en el nuevo montaje de la jaula limpia estéril.



**En esta otra figura se muestran los parámetros que se pueden setear en el equipo; la temperatura, la humedad, y también puede regularse el porcentaje de renovaciones de aire deseadas.**

**EL TIPO DE SISTEMA DE UNIDAD DE BIOCONTENCIÓN DESCRIPTO ES APLICABLE A:**

- Experimentos con enfermedades infecciosas (BSL-2 y los agentes de BSL-3).
- Experimentos compuestos con potenciales citotóxicos.
- Ratas y ratones alojados en cuarentena.
- Control de feromona cuando hay conexión con la instalación de escape.
- Alojamiento de los animales inmunodeficientes e inmune competente en la misma habitación.
- Control de alérgicos.
- Cría de animales infectados y no infectados sin posibilidad de contagio entre jaulas.

Una vez que los animales son sometidos a los agentes infecciosos exógenos o endógenos, con riesgo biológico debe evitarse exponerlos ante otros animales y claramente ante personal, aplicando las prácticas de biocontención, técnicas específicas y los equipos y procedimientos de bioseguridad. En el caso de usas equipos con diferenciales de presión se deben utilizar a modo de presión negativa.

Del mismo modo, cuando se desea usar un animal para producción de antígeno, por ejemplo, se requieren instalaciones de aislamiento, por lo cual el equipo debe ser utilizado en modo de presión positiva.

**Barreras secundarias:** Las barreras secundarias están localizadas en el círculo del trabajador, incluyen desde el diseño del laboratorio, hasta la higiene personal, la vacunación programas de salud laboral y la vestimenta.

Constituyen un conjunto de elementos de construcción y un correcto diseño de las instalaciones; los cuales contribuyen a la protección de quienes trabajan en el laboratorio, proporcionan una barrera para proteger a las personas que se encuentran

fuera del laboratorio, y protegen a las personas o animales de la comunidad de agentes infecciosos que pueden ser liberados accidentalmente del laboratorio.

Las barreras secundarias aplicadas a los laboratorios de bioseguridad pueden incluir la separación del área de trabajo del de acceso público, la disponibilidad de una planta de descontaminación (por ejemplo, autoclave) y las facilidades para el lavado de manos.

**Barreras terciarias:** Las barreras terciarias son aquellas que están localizadas alrededor del laboratorio y evitan que los riesgos repercutan en la comunidad y la regla es que ningún material tóxico o infeccioso abandone el laboratorio. Debe contar con un sistema de autoclaves e incineradores para desechar, si el laboratorio trabaja con residuos radiactivos debe contar con un sistema de colecta de residuos.

Cuando el riesgo de contaminación por la exposición a un aerosol infeccioso está presente, como en BSL-3, se requerirán los niveles más altos de contención para evitar el escape de los mismos al medio ambiente.

Estas características de diseño incluyen **sistemas de ventilación especializados** para asegurar el flujo de aire unidireccional. **(Figura 7)**

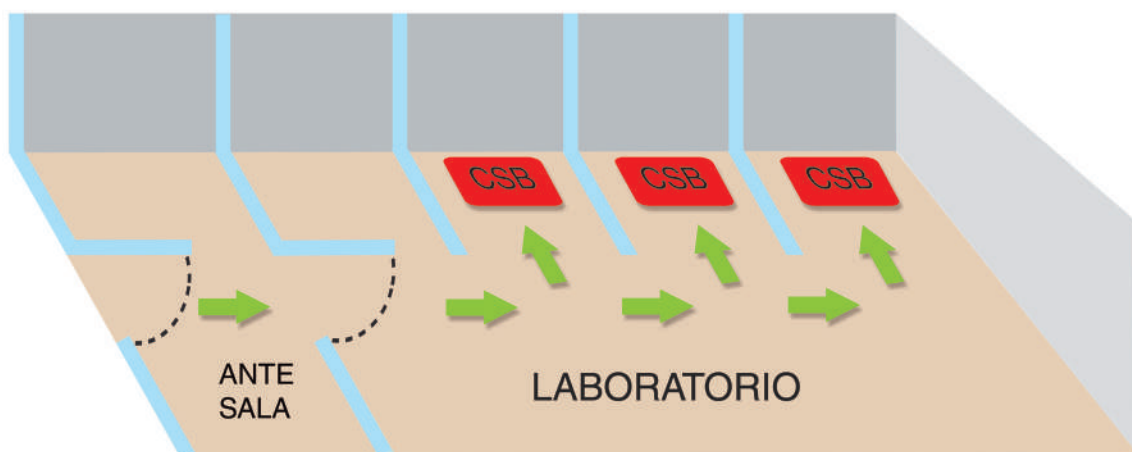


Figura 7: .....

### Sistema de Flujo de aire unidireccional dentro del laboratorio:

En los sistemas de flujo unidireccional o laminar, el aire ingresa a través de toda una de las caras del local, tal como el cielorraso o una pared, el flujo tiene una velocidad constante a lo largo del local, y se extrae a través de toda el área en la superficie opuesta. **(Figura 8)**<sup>3</sup>



Figura 8: .....

Los flujos unidireccionales proveen la senda directa y predecible que seguirá una partícula dentro del área limpia, minimizando la posibilidad de contaminar los componentes del local. También captura las partículas que se generan constantemente dentro del local y se introducen en la corriente de aire, reduciendo, con ello la potencial contaminación cruzada.

Estos sistemas de tratamiento del aire son utilizados para descontaminar o eliminar los agentes en las salidas del aire, zonas de acceso controlado, cierres de acceso de aire en las entradas del laboratorio o edificios o módulos separados para aislar el laboratorio.

A modo de ejemplo, en la figura 8 se representa

el equipo de ventilación – HVAC<sup>4</sup> utilizado en los laboratorios **BSL2 y BSL3A** de la Unidad Operativa Centro de Contención Biológica- UOCCB/ ANLIS para proporcionar el aire dentro de los laboratorios con una constante corriente de aire y temperatura. Para ello dicho sistema cuenta con un proceso de calefacción y enfriamiento, a fin de lograr la temperatura deseada así como pre-filtros y filtros para mejorar la calidad de aire que ingresa al laboratorio. Del mismo modo extrae el aire de los laboratorios filtrándolo, diferenciándose en que el porcentaje del filtrado de extracción es del 99,997% debido a que son laboratorios de contención, por lo que debe evitarse la diseminación de agentes patógenos hacia el exterior.

<sup>3</sup> Imagen del Laboratorio BSL2 de la UOCCB del Instituto Carlos G. Malbrán – ANLIS, en la cual se indica la inyección y extracción del aire en las caras opuestas del laboratorio.

<sup>4</sup> Heating, Ventilating and Air Conditioning.

### ANÁLISIS DE RIESGO

El personal que trabaja con agentes infecciosos debe reconocer los peligros potenciales, tener el entrenamiento adecuado y ser competente en las prácticas requeridas para manejar el material de forma segura.

La identificación de riesgos es la primera acción que debe tomarse en todo proceso preventivo. De su correcta ejecución dependerá el éxito de las actividades preventivas.

Para llevar adelante el análisis de riesgo debemos conocer, de modo detallado:

- La organización del lugar.
- El proceso productivo que en ella se desarrolla.
- Las tareas y procedimientos.
- Materias primas utilizadas.
- Equipos de trabajo.
- Trabajadores que se encuentran en cada puesto, su estado de salud, edad, sexo y tiempo de exposición.

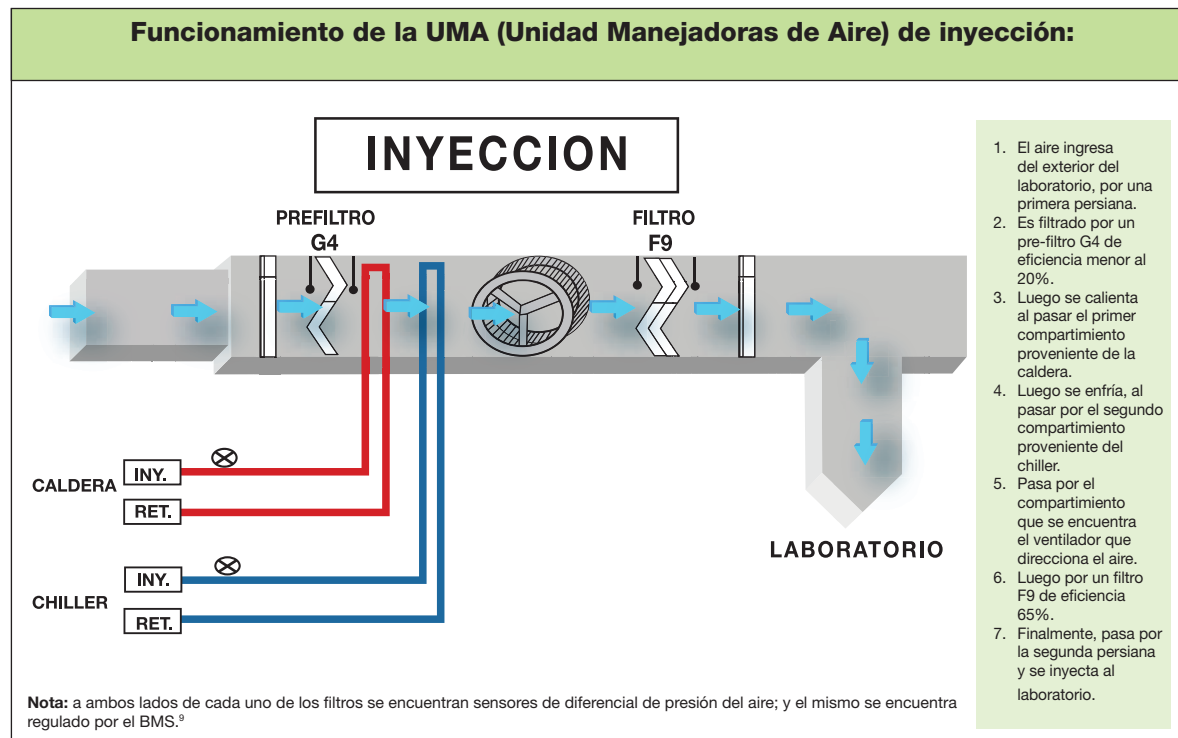
La mencionada identificación tiene por objeto evidenciar los elementos peligrosos existentes en el ambiente de trabajo.

Cada laboratorio debe desarrollar o adoptar un manual de operaciones de seguridad que identifique los peligros que se puedan presentar, que especifique las prácticas y los procedimientos diseñados para minimizar o eliminar exposiciones.

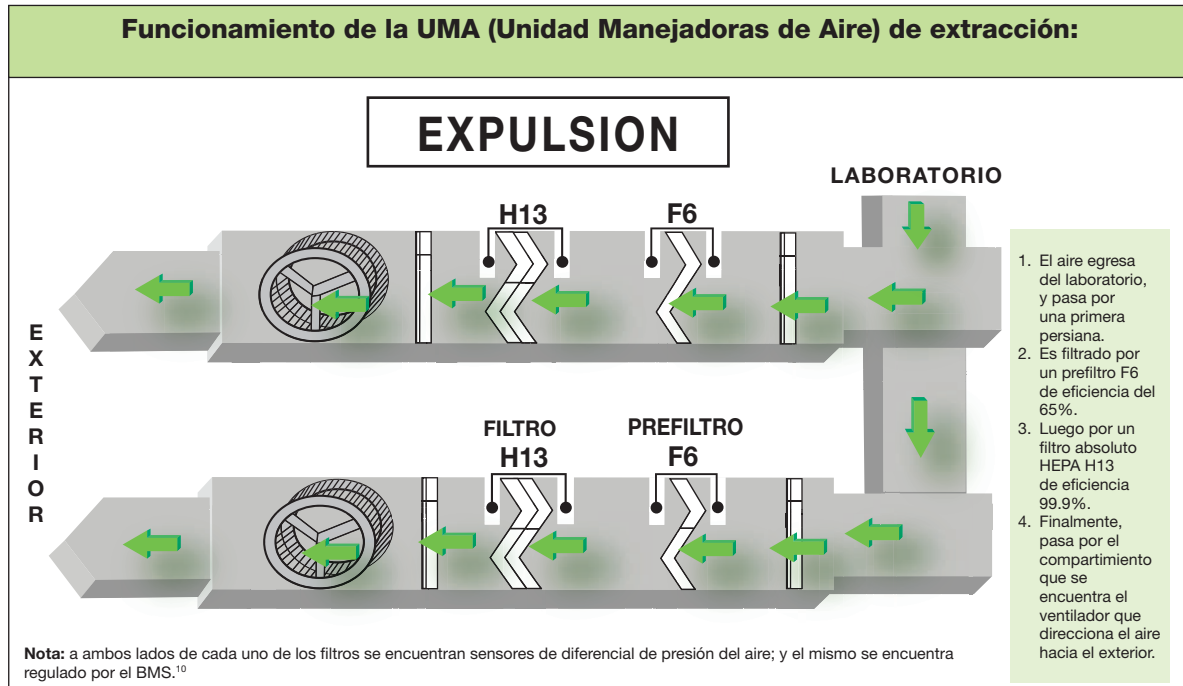
Para ello el Manual de Bioseguridad – ANLIS aborda aquellos principios y directrices a adoptar; entre los que se detallan la evaluación y gestión del riesgo.

Del mismo modo el responsable del laboratorio ha de promover la actualización y capacitación continua del personal.

Para tal fin, si se van a realizar experimentos con agentes patógenos, se buscará implementar en el laboratorio diferentes medidas de contención. Buscando reducir al mínimo la exposición del personal de los laboratorios; de otras personas, y del entorno, a agentes potencialmente peligrosos; generando presión negativa<sup>11</sup> en los mismos o en el equipo que se utilice.







9 Building Management System; es un sistema de Supervisión, Control y Adquisición de datos de dispositivos mecánicos y eléctricos instalados en edificios, instalaciones y/o infraestructuras.

10 Building Management System; es un sistema de Supervisión, Control y Adquisición de datos de dispositivos mecánicos y eléctricos instalados en edificios, instalaciones y/o infraestructuras.

11 Mayor extracción que inyección de aire.

## DISEÑO DE BIOTERIOS

El concepto de bioterio define una instalación para animales de laboratorio diseñado a los fines de facilitar la investigación mediante la disminución de variables experimentales imprevistas, en tanto provee todos los requerimientos fisiológico, sociales y de comportamiento del animal. Proyectos de investigación disímiles, y/o especies diferentes de animales, requieren a menudo ambientes e instalaciones distintos.

Para satisfacer tales necesidades, un bioterio debe tener áreas separadas para ejecutar varias funciones; salas y equipo especializados así como condiciones ambientales muy bien controladas.

Hay que tener en cuenta, que independientemente del tipo de trabajo que se realice o patógeno que se manipule, hay un conjunto de medidas técnicas, mecánicas, teóricas y sanitarias dirigidas a evitar contaminación en cualquier sentido, dentro de un sistema de producción, mantenimiento, experimentación o mixtos:

- Medidas técnicas: proyección y diseño.
- Medidas mecánicas: correcto funcionamiento de los sistemas de ventilación, climatización, iluminación, limpieza, esterilización.
- Medidas teóricas: organización de áreas, incluyendo protocolos de trabajo, mantenimiento de equipos.

### PROBLEMAS COMUNES QUE PUEDEN SER CONTROLADOS CON UN LABORATORIO PROPIAMENTE DISEÑADO:

- Pérdida de Contención Primaria.
- Creación de Aerosoles.
- Trabajar con grandes volúmenes y/o altas concentraciones de microorganismos.
- Laboratorios superpoblados y sobre equipados.
- Infestación de roedores e insectos.
- Entradas no autorizadas.
- Flujo laboral: uso de muestras específicas y reactivos.

### CONTROLES DE INGENIERÍA

Los elementos de los controles abarcan:

- a. Control de equipos/aparatos entre el laboratorio, donde sea aplicable.

- b. Equipo de ventilación – HVAC.
- c. Control / Monitoreo de los cuartos en el laboratorio y/o grupo de laboratorios.

Los Bioterios dotados de los medios apropiados para cumplimentar con todos los requerimientos son muy costosos. Por lo tanto, es muy importante realizar el máximo esfuerzo para asegurar que los nuevos Bioterios sean programados, diseñados y construidos en función del tamaño y de la extensión para el uso animal del momento, pero con la polivalencia suficiente para satisfacer futuras necesidades.

Existen varias alternativas publicadas sobre la forma de concebir el diseño, que permitan lograr cualquier exigencia funcional. A modo de ejemplo puede citarse el “Handbook of Facilities Planning, Volume 2: Laboratory Animal Facilities (Ruys, 1991)” que es un trabajo práctico posible de consultar en la fase de planificación.

### UBICACIÓN

Los Bioterios deberían estar ubicados en lugares donde haya un mínimo de acceso del público o de circulación de personal, y un mínimo de movimiento de animales, jaulas, basura, etc., en los corredores y ascensores de uso común.

Deberían ser de fácil acceso por los usuarios de los animales, pero seguros. Es deseable que haya un acceso directo exterior para recoger las entregas de insumos y para la eliminación de basura.

Los Bioterios ubicados en pisos más altos deberían ser accesibles por lo menos con dos ascensores, uno para materiales limpios y otro para materiales sucios, a menos que se tomen medidas apropiadas para limpiar y desinfectar un ascensor único siguiendo las indicaciones para el transporte de materiales sucios. Para los Bioterios muy pequeños o satélites, pueden ser aceptables precauciones alternativas para minimizar la contaminación.

### SERVICIOS MECÁNICOS

Los sistemas de calefacción, de aire acondicionado y de ventilación para bioterios son generalmente

muy sofisticados y costosos. La ubicación de estos sistemas debe permitir que su mantenimiento se efectúe con un mínimo de perturbación para los animales. Esto se puede conseguir mediante la colocación de los servicios mecánicos en el piso encima del bioterio, para que su mantenimiento no requiera entrar en él. Sin embargo, es más común ubicar dichos servicios en el espacio entre pisos. En este caso, el acceso se debe hacer desde los pasillos, y no desde las salas de los animales o de las zonas restringidas tales como las áreas de riesgos biológicos.

## DISEÑO

El tamaño del bioterio debería ser determinado teniendo en cuenta a las especies a ser alojadas y los tamaños variados de corrales, jaulas y de estantes para jaulas a ser incluidos, permitiendo un mantenimiento y una ventilación adecuados.

Los Bioterios deben ser diseñados para que sean de mantenimiento fácil, y, para estos fines, tendrán un mínimo de equipo permanente. En muchos casos, una pileta pequeña para lavarse las manos puede ser suficiente.

La ubicación de las salas de alojamiento y de los anexos dependerá de las especies, de su uso experimental y de la calidad microbiana. El diseño debería posibilitar el sentido de la circulación del lado más limpio hacia las áreas más sucias. Las salas más frecuentemente usadas por los investigadores deberían estar ubicadas cerca de la entrada para disminuir la circulación.

## DIVISIONES FUNCIONALES IMPORTANTES

El diseño de una instalación de animales experimentales, como ya se ha mencionado, debería tomar en cuenta las necesidades de los animales utilizados y de los requerimientos de los científicos y del personal técnico.

En este sentido, un diseño adecuado debe permitir la ejecución de varias funciones separadas y, a veces, incluir áreas altamente especializadas.

Los locales de alojamiento de los animales deberían ser separados de las salas donde se realizan las experiencias.

Entre los aspectos fundamentales de un diseño se encuentran: la provisión de un sistema de saneamiento eficiente y efectivo, una circulación eficiente del trabajo y una expansión metódica.

## Modelo de bioterio:

Un bioterio ideal deberá contar con diferentes áreas funcionales, siendo las principales: recepción de animales; cuartos de acondicionamiento; salas de alojamiento; instalaciones para las manipulaciones y los tratamientos; instalaciones de apoyo; áreas para el personal, las oficinas y la recepción e instalaciones para el personal.

### a. Área de recepción de los Animales.

El área de recepción debe ser ubicada de manera tal que los animales que entran en ella no tengan que pasar por las áreas de alojamiento o de experimentación. De igual manera, el material desechado no debería pasar por el área de recepción, la cual debe tener el espacio suficiente para el desembalaje y el examen inicial de los animales, y para mantenerlos bajo condiciones ambientales apropiadas, hasta que sean ubicados en el área de acondicionamiento o en una de las salas para animales.

### b. Cuartos de acondicionamiento.

En estos cuartos los animales reciben un examen detallado, están puestos bajo observación y acondicionados antes de la experimentación.

La disponibilidad de cuartos apropiados para acondicionamiento es particularmente importante cuando se adquieren animales de fuentes desconocidas (p. ej., perros, gatos, primates no humanos, y animales silvestre).

En algunas circunstancias y cuando el espacio lo permite, es posible y hasta deseable ubicar inmediatamente a los animales en los cuartos de experimentación, cuando éstos provienen de una misma fuente, evitando así los contactos con otros animales.

### c. Salas de alojamiento.

Deben estar disponibles locales de alojamiento separados para cada especie, según su origen y para cada proyecto de un investigador. Consiguientemente es preferible tener varias salas pequeñas antes que pocas salas grandes. Se pueden hacer excepciones cuando los investigadores utilizan las mismas especies provenientes de la misma fuente, para proyectos diferentes (p. ej., producción de anticuerpos en conejos). El alojamiento mezclado se debe limitar a grupos de animales de una misma especie, de compatibles condiciones social y de salud.

Cuando hay que mezclar varias especies, es posible lograr cierto grado de aislamiento por un diseño especial de la sala, por la selección del equipo y/o de las jaulas. Se pueden reducir los riesgos de contaminación cruzada con el uso de cubículos de aire controlado, de unidades de flujo laminar portátiles, y de varios tipos de jaulas de aislamiento.

Se deben prever salas especiales para el uso de radioisótopos, agentes infecciosos y sustancias altamente tóxicas. También se pueden necesitar de locales para propósitos especiales como la crianza de colonias, estudios con ambiente controlado, alojamiento de animales domésticos y de animales silvestres.

Es importante cuando se diseñan las salas de alojamiento, considerar posibles usos futuros de estas instalaciones. Donde el uso de animales ha sido uniforme por varios años, todos los locales se pueden diseñar para el uso de especies animales específicas. Sin embargo, en muchos bioterios el uso de animales fluctúa considerablemente; por esta razón, la polivalencia es sumamente importante. Una sala de alojamiento polivalente es un local que encuentra los requerimientos aceptables para el alojamiento de especies diferentes.

#### • Salas de cuarentena/aislamiento:

Dentro de la instalación pero separadas del área de acondicionamiento, se pueden requerir salas de cuarentena/aislamiento, para alojar a los animales enfermos o a los que regresan al bioterio después de haber sido utilizados en el laboratorio de un investigador.

#### d. Instalaciones para las manipulaciones y los tratamientos.

Las manipulaciones experimentales no se deben efectuar en los locales de alojamiento de los animales, a menos que sea necesario según el protocolo experimental o por razones de contención, y que sea aprobado por el Comité Interno para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio – CICUAL que revise el protocolo. Instalaciones separadas deben ser disponibles para la cirugía, la eutanasia, etc., pero no necesitan estar todas ubicadas dentro de los Bio-

terios. Por lo tanto, las salas de alojamiento deben situarse lo más cerca posible de los laboratorios de investigación y de enseñanza.

Los Bioterios pueden incluir salas para algunas o todas las actividades siguientes: preparación pre quirúrgica, cirugía, cuidados postoperatorios, radiología, necropsia, servicios diagnósticos, preparación de dietas especiales, droguería o farmacia, etc.

El diseño y la organización de instalaciones especiales dependerán de cómo serán utilizados. Sin embargo, aún con instalaciones precarias, siempre se debe prever un área especial o un local reservado para cirugías menores y/o tratamientos, además de una sala de necropsia.

Puede ser difícil de predecir salas de diagnóstico separadas para los Bioterios menores, en tales casos, habrá que tomar las medidas necesarias para la provisión de tales servicios.

#### e. Instalaciones de apoyo.

##### • Instalaciones de lavado y esterilización:

Las instalaciones de lavado y esterilización del equipamiento y del material deberían ser diseñadas para estos fines y estar ubicadas donde provocarán menos molestia para los animales, el personal y los servicios vecinos.

La ventilación deberá ser suficiente para eliminar los olores, el exceso de calor y de vapor del resto de la instalación. Los fregaderos o lavatorios para la limpieza de manos y de piezas especiales de equipo son muy útiles, así como también los fregaderos profundos y grandes. Se puede colocar los autoclaves y otros equipos especiales en esta área. Idealmente, el área de lavado debería ser diseñada para separar el material limpio del sucio. Si el lavado de las jaulas o los estantes de jaulas se hace por pulverización, se recomienda instalar un sector separado por muros y con agua caliente y fría, además de un distribuidor de desinfectante.

Asimismo, debe estar relacionado con un área de depósito limpio, que tenga la dimensión necesaria para guardar el material previo a su utilización.

##### • Eliminación de desechos:

El área de eliminación de desechos debe proveer

espacio para el almacenaje apropiado de material relacionado a los animales, excrementos, camas sucias, etc.

Mientras estén recogidos, los desechos se deben guardar en una heladera o en una cámara fría reservada para este fin. Los desechos colocados afuera de las instalaciones se deben mantener en recipientes cerrados herméticamente.

Los Bioterios deben cumplir con la reglamentación de almacenaje y de eliminación de los desechos. Asimismo, la manipulación de los desechos tóxicos, infecciosos o radioactivos debe cumplir con las disposiciones institucionales y de la jurisdicción.



En esta imagen se observa el Autoclave de frontera, ubicado dentro del Bioterio de Nivel de Bioseguridad 3 de la UOCCB- Unidad Operativa Centro de Contención Biológica de la ANLIS- Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud. A través del cual se realiza la eliminación de desechos generados en el mismo

#### • Conservación de los alimentos y de Camas:

Se puede conservar pequeñas cantidades de ali-

mentos y de cama en las salas de los animales, en recipientes cubiertos apropiados.

Para minimizar el deterioro y la contaminación de los alimentos, se deben almacenar en cámaras frías (<15°C), secas, a prueba de roedores e insectos. En cuanto a los alimentos para el ganado, que como el heno pueden contener plagas, deben aislarse de los alimentos y cama de los otros animales de laboratorio.

#### • Almacenaje del equipamiento:

La falta de espacio de almacenaje es una de las deficiencias más serias y más frecuentes encontradas en el diseño de una instalación.

No se debe almacenar equipamiento en los vestíbulos, pasillos, o en los espacios donde se alojan animales. También el equipamiento limpio, destinado para uso en salas donde se alojan animales, debería ser llevado solamente cuando sea requerido.

Las áreas usadas para almacenar equipamiento limpio deberían estar separadas de las áreas de recepción del sucio. En una instalación media, un espacio de almacenaje de 11% (espacio neto) se estima adecuado. En instalaciones donde se manipulan varias especies de animales guardados en condiciones diferentes, este porcentaje deberá ser incrementado hasta un 20% o más.

#### f. Áreas para el personal, las oficinas y la recepción.

Estas áreas funcionales se pueden combinar o separar. Es preferible que se encuentren contiguas, y no dentro de las instalaciones de los animales. Se debe prever un espacio suficiente para acomodar a todo el personal administrativo, ocasionalmente a técnicos, y para recibir los numerosos archivos que se deben guardar.

Del mismo modo, contar con una cocina con suficiente espacio para el personal; son todos parámetros a tener en cuenta a la hora del diseño del laboratorio, considerando un amplio espacio, para evitar futuros inconvenientes.

#### g. Instalaciones para el personal.

Las instalaciones para el personal deben favore-

cer altas normas de higiene personal y proveer un lugar de fácil acceso con armarios, duchas, lavamanos e inodoros, donde el personal se pueda cambiar. Según el diseño de la instalación, puede ser necesario tener este tipo de salas en varios sectores.

También se deben proveer espacios donde el personal pueda descansar, comer y hacer reuniones. Es preferible que estén contiguas, pero fuera del área de alojamiento de los animales.

Además es recomendable tener un centro de información para el personal que puede incluir libros, revistas, boletines, catálogos y otras fuentes de material pertinente.

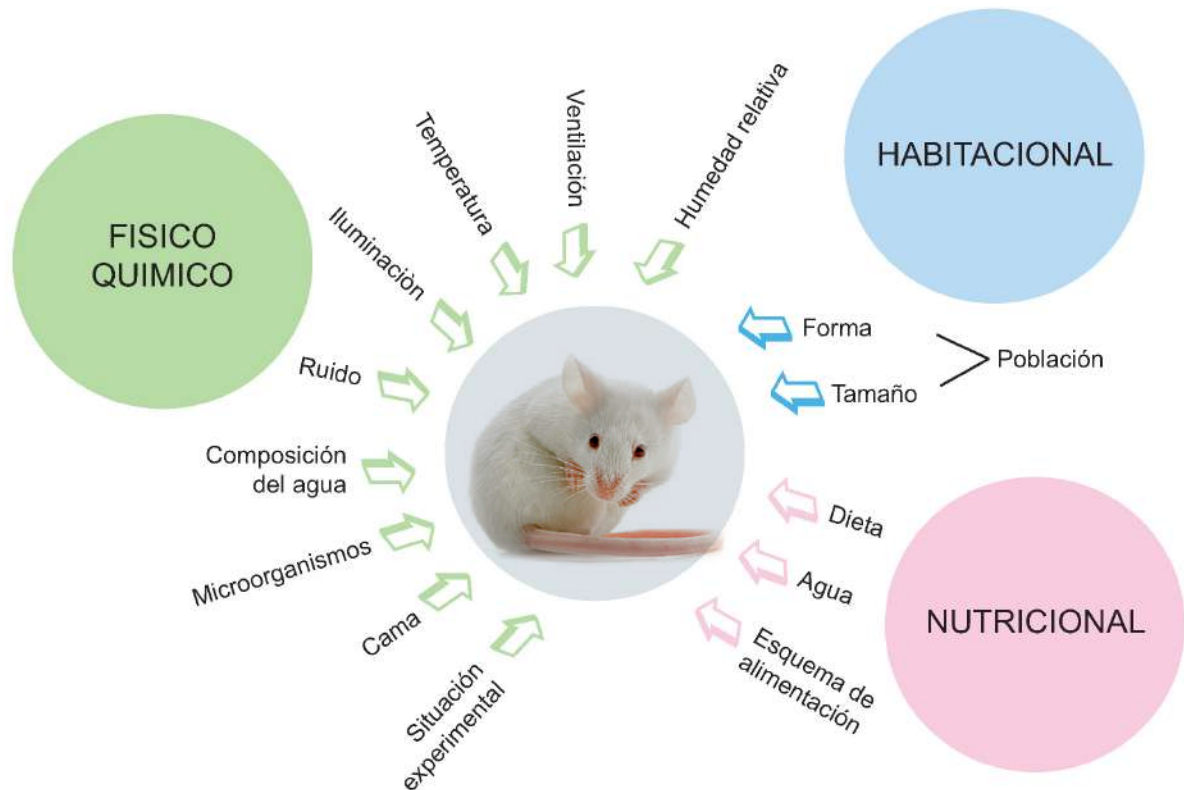
## SEGURIDAD

El acceso a los Bioterios debe estar regulado a fin de asegurar un control constante del ambiente y para minimizar las interferencias que pueden modificar los resultados experimentales.

Las entradas y salidas deben estar limitadas y los Bioterios mantenidos bajo llave en todo momento. Solamente el personal autorizado puede tener acceso.

Cuando un gran número de investigadores usan las mismas instalaciones, es aconsejable tener cerraduras individuales para cada sala o sistemas electrónicos de control de acceso deberían estar disponibles.

# ESTANDARIZACIÓN AMBIENTAL



La estandarización ambiental integra el concepto que comprende en mantener de forma constante una serie de parámetros ambientales propios de cada especie dentro de las zonas de alojamiento. Las exigencias ambientales varían según la especie animal y el protocolo experimental.

El ambiente es el espacio físico proporcionado por el hombre al animal de laboratorio para su protección, bienestar y salud que posea características diferentes de acuerdo al intercambio que permitan los dispositivos tecnológicos empleados entre el animal y su entorno. El mismo se divide en:

- **Macroambiente:** Esta en relación directa con el microambiente y con el exterior. Se relaciona indirectamente con el animal.

- **Microambiente:** Esta en relación directa con el animal.

Los parámetros del ambiente están habitualmente evaluados al nivel del local del alojamiento. Sin embargo, el más importante es el microambiente de la jaula, porque las condiciones entre ambos pueden variar considerablemente.

El diseño de la instalación para los animales debe permitir ajustar los mecanismos de control del ambiente, a fin de cumplir con las necesidades de las especies y el protocolo experimental. Idealmente, cada sala donde se guarden los animales debería tener su propio sistema de control.

En las instalaciones no originalmente construidas con este sistema, es posible mediante un mane-



jo apropiado, instalar cronómetros automáticos de iluminación, reóstatos, ventiladores de escape con control termostático, humidificadores, y unidades de aire acondicionado.

Para todas las especies, se han de controlar las condiciones ambientales para limitar los cambios fisiológicos que puedan alterar su bienestar y las variables científicas.

Algunos de los parámetros ambientales que cabe considerar son:

- La ventilación.
- La temperatura.
- La humedad.
- La iluminación.
- El ruido.

### VENTILACIÓN

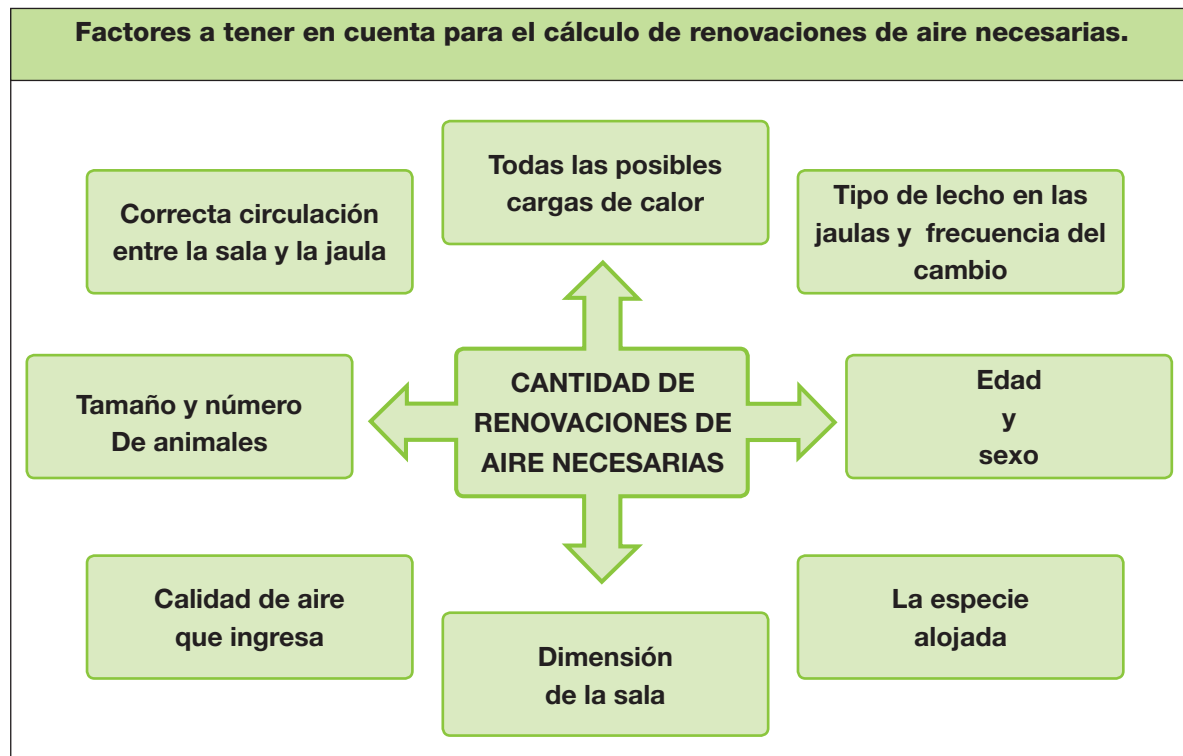
El volumen, la calidad y la circulación del aire en las salas tienen un impacto en el alojamiento del animal

y, por lo tanto, son factores determinantes en su microambiente. Para determinar la tasa de renovación del aire, entre otras cosas, es necesario considerar **(Ver recuadro: Factores a tener en cuenta para el cálculo de renovaciones de aire necesarias.)**

Se recomienda usualmente una frecuencia de 15-20 cambios de aire por hora (sin corrientes de aire) para salas alojando animales pequeños de laboratorio en condiciones convencionales. Pero tal frecuencia no garantiza la ventilación adecuada al nivel de la jaula, particularmente si se usan tapas filtros.

La tasa mínima de cambios de aire para las áreas de laboratorio con corrientes de aire es 6 cambios de aire por hora sin importar la carga de refrigeración del área. Algunos laboratorios pueden requerir una tasa mayor para el soporte de la demanda de las cabinas para humos o para enfriar altas cargas de calor de algunos equipos del laboratorio. El diseño de los sistemas de aire acondicionado debe permitir la utilización máxima de la capacidad del sistema de





extracción para todas las CSB que puedan ser requeridas en la instalación<sup>1</sup>.

Cálculo de cambios de aire mínimos por hora:

$$Q = AC/HR \times W \times L \times H$$

Donde:

Q = Tasa aire extracción, m<sup>3</sup>/hr

AC/HR= Cambios de aire por hora

W = Ancho, m

L = Largo, m

H = Altura, m

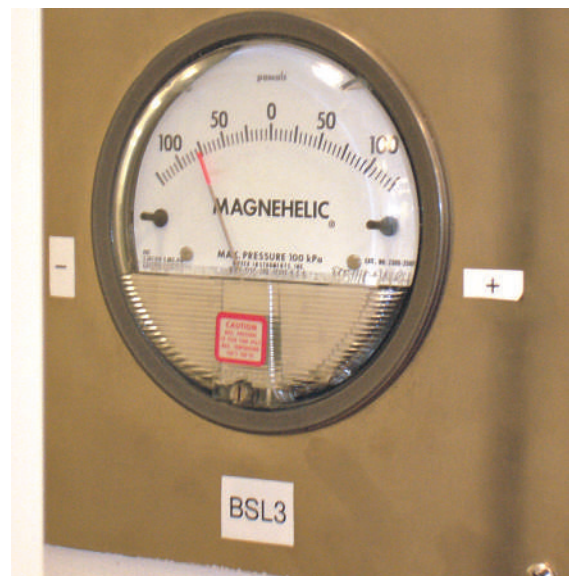
Las diferencias de presión del aire pueden usarse para inhibir el pasaje de agentes patógenos entre salas. Presiones más altas se usan en áreas limpias unidas con áreas sucias o con riesgos biológicos, a fin de minimizar las contaminaciones.

En las instalaciones donde el confinamiento y la exclusión de microorganismos del aire dependen en parte de las diferencias de presión de aire, se pueden utilizar manómetros o varillas graduadas magnéticas inclinadas para medir la diferencia entre las presiones altas y bajas en milímetros de agua.

### La ventilación influye en:

- La temperatura.
- La humedad.
- La concentración de partículas gaseosas y contaminantes en las jaulas y locales de los animales.

Los aparatos y los locales con flujo laminar proveen una buena ventilación con una circulación de aire unidireccional sin demasiadas corrientes de aire. Estos sistemas pueden aislar eficientemente las jaulas entre ellas y controlar la diseminación de olores y agentes patógenos transportados en el aire.



<sup>1</sup> NIH Design Policy Guide.

Generalmente, se debe mantener una diferencia de 2.5-5.0 mm (0.1-0.2 pulgadas). Se equilibra la inyección con la extracción de aire, generando una presión mayor en el área a resguardar:

Pasillo limpio	Sala animales	Pasillo sucio
+++	++	+

En caso de tener animales infectados será en sentido contrario, permitiendo así que no se disipe el agente contaminante.

- El diseño del sistema de ventilación
- debe tomar en cuenta la conservación de energía.
- Los sistemas de recirculación de aire
- deben ser dotados con filtros eficaces (y depuradores de aire, si necesario) para evitar la diseminación de enfermedades y para quitar partículas y contaminantes gaseosos.
- La filtración del aire minimiza la
- presencia de partículas transportadas por el aire. Se utilizan filtros que retienen partículas de menor tamaño, estos varían según sus características en su eficacia, dependiendo del tamaño de la partícula retenida:
  - a. Baja eficacia (fibra de vidrio).
  - b. Alta eficacia (Hepa) eficiencia del 99.997%.

**Equipos con ventilación controlada.** Armarios ventilados / aisladores: Otorgan condiciones estériles a través de filtros de aire de alta eficacia. Los animales son trabajados en cabinas de flujo laminar para no perder su estado sanitario.

#### Los equipos a utilizar dependerá de:

- a. La clasificación sanitaria de los animales que allí se van a alojar.
- b. La especie que se desee alojar.
- c. La cantidad que se va a alojar.

Se deberá tener en cuenta las medidas necesarias de las jaulas y materiales, y organizar una distribución de las mismas para evitar el hacinamiento.

En el caso que se necesiten condiciones de aislamiento, ya sea por trabajar con animales inmunosuprimidos o por ser portadores de algún patógeno

de riesgo, se debe contar con equipos que tengan la posibilidad de trabajar con diferenciales de presión; como los racks que poseen las jaulas individuales ventiladas; o las cabinas de aislamiento.



Si se requiere mantener animales en condiciones asépticas el equipo debe utilizarse con presión positiva, regulando mayor inyección que extracción de aire; evitando que entre cualquier posible contaminación.

Si se requiere mantener animales infectados con patógenos de alto nivel de riesgo biológico, se debe utilizar el equipo en modo de presión negativa, generando mayor extracción que inyección del aire, evitando así cualquier contaminación que pueda ocasionar en el ambiente.



*En esta imagen se muestran los indicadores de una Cabina de Aislamiento de animales, funcionando a modo de presión negativa, indicando en los manómetros los diferenciales de presión en el equipo y en cada uno de los filtros, de inyección y extracción.*

## TEMPERATURA

La temperatura ambiental es un factor físico con un gran impacto en el bienestar de los animales por lo que de manera general, deberá controlarse la temperatura de las salas.

Las fluctuaciones diarias han de limitarse por los medios apropiados para evitar solicitaciones repetidas del metabolismo y del comportamiento de los animales debido a la necesidad de compensar los cambios de temperatura.

Las temperaturas en las salas de los animales deben ser controladas diariamente y, preferentemente, registradas 24 horas por día.

Una alternativa económica es el uso de un termómetro máxima/mínima, que se examina y se reajusta todos los días. Sin embargo, esto no indica cuanto tiempo la sala estuvo mantenida a una temperatura en particular, y es sumamente importante saberlo. Es esencial que equipos de emergencia estén disponibles para mantener las temperaturas deseadas.

Se deberá tener la temperatura controlada por sala teniendo en cuenta las siguientes recomendaciones por especie animal<sup>1</sup> :

Espece Animal	Temperatura de Bulbo Seco °C
Ratón, rata, hámster, gerbo, cuyos	18-26
Conejos	16-22
Gato, perro y primates no-humanos	18-29
Animales de Granja y Aves	16-27

Si las prácticas de manejo o el protocolo experimental requieren que un animal sea alojado a temperaturas fuera de las variaciones recomendadas, se le debe dar el tiempo necesario para adaptarse. La temperatura del micro ambiente deberá también ser controlada.

### Factores que afectan la temperatura en la jaula

### Pueden influir sobre la investigación y las pruebas con los animales en:

Tipo de jaula	La respuesta de un animal a drogas
Material de lecho	La susceptibilidad a las enfermedades infecciosas
Uso de filtros	La fertilidad
Densidad de alojamiento	La producción
Especie y cepa	La toma de agua y de alimentos
Edad	Las curvas de crecimiento
Sexo	Los parámetros hematológicos

<sup>1</sup> Temperaturas de Bulbo Seco Recomendadas para los Animales de Laboratorio Comunes, según la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio del Institute of Laboratory Animal Resources, de 1996.

La exposición de los animales no adaptados a temperaturas superiores a los 29,4°C o por debajo de 4,4°C, sin que tengan acceso a protección en un refugio u otro mecanismo, puede generar cambios inmunológicos que repercutan en los resultados de las pruebas. Al alterar el sistema inmune, estos cambios pueden generar prolongación del tiempo de recuperación posoperatoria o pos procedimental, o puede inducirse la muerte de los animales.

Existe también la posibilidad de que estos generen adaptaciones a cambios extremos de temperatura, pero ello lleva tiempo y cambios morfológicos y fisiológicos que modifican el modelo inicial, invalidando entonces los resultados del proyecto o adicionando variables que deben ser nuevamente consideradas.

Ocasionalmente, la temperatura óptima para el animal de experimentación no es la más cómoda para el personal; sin embargo, las preferencias humanas no deberían comprometer los requerimientos experimentales o la salud y comodidad del animal.

## HUMEDAD

La mayoría de los animales de laboratorio prefieren una humedad relativa alrededor de 50%, pero pueden tolerar variaciones de 40-70% mientras sea de manera relativamente constante y que las variaciones de temperatura sean adecuadas. Resulta en un malestar para el animal cuando los niveles de humedad afectan su capacidad para mantener su homeostasis térmica.

En las instalaciones donde es difícil de controlar el control de la humedad dentro de variaciones aceptables, puede ser necesario instalar deshumidificadores o humidificadores.

Los niveles de humedad pueden afectar los resultados experimentales, influyendo en:

- La regulación de la temperatura.
- El desempeño del animal.
- La susceptibilidad a las enfermedades.

Las variaciones en la humedad pueden ser de mayor o menor severidad, dependiendo de la temperatura (menos perjudicial a menos temperatura):

**Por debajo del 40%  
(muy bajo)**

Se presentan alteraciones del tracto respiratorio por la cantidad de polvo y el "ring tail" (signo de cola en anillo) en ratones.

**Mayor al 70%  
(humedad alta)**

Se favorece la presencia de microorganismos e induce una mayor producción de amoníaco, lo cual vuelve a los animales más susceptibles a las infecciones.

## ILUMINACIÓN

La luz puede afectar la fisiología, la morfología y el comportamiento de numerosas especies. En general, toda la zona de alojamiento deberá tener una iluminación apropiada para el bienestar, las Buenas Prácticas de manejo y la inspección adecuada de los animales, sin olvidar las condiciones de seguridad del personal.

Las cuatro características a tener en cuenta respecto al control del ciclo de luz son:



La iluminación debe proveer una buena visibilidad y una luz uniforme y sin reflejos. Las recomendaciones previas de 807-1345 lux (75-125 pc) a 76 cm del piso ocasionaron degeneración de la retina en ratas albinas. El nivel recomendado de 323 lux (30 pc) aproximadamente a 1 m del piso fue juzgado suficiente para el desempeño de tareas de rutina con los animales y no ocasiona retinopatía fototóxica en los roedores.

### Distribución de las jaulas:

La intensidad luminosa experimentada por animales alojados cerca de la fuente de luz puede diferir notablemente con la que experimentan otros más alejados, porque la intensidad es inversamente proporcional al cuadrado de la distancia de la fuente luminosa.

Además, dicha intensidad dentro de una jaula depende de la construcción y del tipo de jaula, de la posición de la jaula sobre el soporte, del tipo de soporte, y puede variar notablemente desde el frente hacia atrás.

La intensidad luminosa puede influir sobre:

- Retinopatía fototóxica.
- La agresividad.
- La incidencia de canibalismo.

Un nivel de aproximadamente 200 lux no parece causar daños a la retina y se ha demostrado que era adecuado para la reproducción y el comportamiento social normal entre la mayoría de los roedores. A este nivel, una fuente de iluminación adicional controlada por un interruptor separado es necesaria para mejorar la iluminación durante las actividades de mantenimiento.

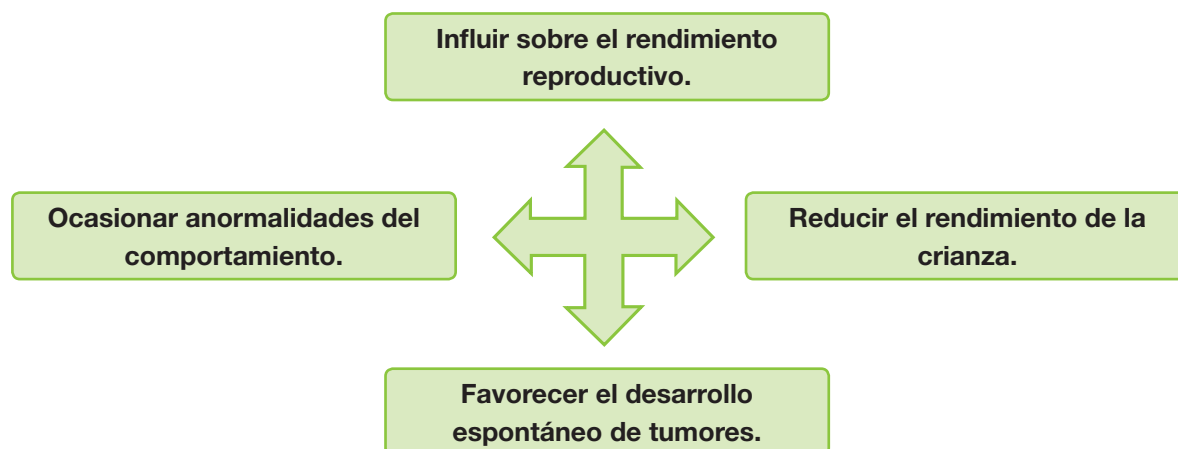
Es importante también tener en cuenta cambios graduales entre los períodos de oscuridad y claridad, para dar tiempo al ajuste del comportamiento y la expresión de comportamientos crepusculares.

Los peces y los anfibios pueden tomar hasta treinta minutos para su adaptación intraocular a los cambios de intensidad luminosa.

### Calidad de la luz:

La iluminación en las salas donde se alojan animales debe tener la calidad de la luz solar.

En los roedores de laboratorio, un espectro luminoso que difiera notablemente de la luz del sol puede:



Niveles altos de **ultravioleta (UV)** pueden:

- Inducir cataratas en ratones de laboratorio.
- Ocasionar daños epiteliales en algunas especies sensibles a agentes fotosensibilizadores.

La longitud de onda a la cual están expuestos influye la fecundidad y tiene repercusiones sobre el desarrollo y relación de sexo de los recién nacidos.

Las ondas electromagnéticas fuera del espectro visible pueden influir el comportamiento y la actividad de ratas de laboratorio.

### **Fotoperiodo:**

El fotoperiodo debe ser de 12hs luz/ 12hs oscuridad; y 14hs oscuridad/ 10hs luz en el caso de los animales crepusculares, como los cobayos.

Tiene una influencia sobre los ritmos circadianos encontrados en los aspectos bioquímicos, fisiológicos, y de comportamiento en los modelos animales estimulados y sincronizados mediante la vía neuroendocrina.

Si un cambio ocurre en el fotoperiodo de un animal, no se deben ejecutar experiencias con él durante por lo menos una semana.

Se deben tener cronómetros automáticos para controlar ciclos de luz en todas las salas donde se alojan animales. La pauta horaria establecida debería controlar o engancharse a un sistema de alarma. Además, no se debe contar con ventanas en las salas de animales, en caso contrario debe ser posible tapar totalmente todas las ventanas de los locales.

Variaciones en el ciclo circadiano pueden:

- Afectar la respuesta del animal a drogas o su resistencia a organismos infecciosos inoculados.
- Afectar el desempeño reproductivo y la madurez sexual.
- Si el período de oscuridad se ve afectado por el período de luz, afectar significativamente los ritmos endógenos.

Las diferencias en la luz, como también las mencionadas en la temperatura y el flujo de aire entre las jaulas sobre los estantes pueden afectar los resultados experimentales y deberían ser minimizados al rotar las jaulas en diferentes posiciones sobre los estantes, o asignando a los animales en las jaulas basadas en una tabla de números aleatorios.

*Todas las condiciones en las cuales se alojan a los animales, al igual que cualquier modificación que se haga respecto al alojamiento del animal, deben ir registrado y documentado junto con los resultados del trabajo experimental.*

### **RUIDO**

Los efectos del ruido sobre animales de laboratorio dependen de su intensidad, su frecuencia, la rapidez de aparición, su duración y las características del animal (especies, cepa, antecedentes de exposición al ruido).

Al separar las áreas reservadas al hombre y al animal, se reduce el nivel sonoro y las alteraciones que causan los animales del establecimiento.

Los animales ruidosos como perros, cerdos, cabras y primates no humanos deberán alojarse de forma que no afecten el bienestar de los animales más calmos como roedores, conejos y gatos.

Deberá considerarse la insonorización, tanto de las zonas de alojamiento como de las zonas de procedimiento para mitigar los efectos del ruido.

Muchas especies son sensibles a las altas frecuencias, por lo tanto, deberán identificarse las posibles fuentes de ultrasonidos.

La sensibilidad y susceptibilidad auditiva al ruido que conduce a la sordera difiere según la especie.

### **Intensidad:**

La intensidad de ruido recomendada para la sala de animales es entre 65 – 85 dB; aunque teniendo en cuenta que, ocurrieron cambios adversos en ratas expuestas a ruidos intermitentes de 83 dB, el máximo permisible es de 80dB.

La exposición a patrones uniformes de estímulo puede conducir más rápidamente a la pérdida del oído, mientras que la exposición a patrones irregulares puede probablemente ocasionar desórdenes debidos a la activación repetida del sistema neuroendocrino.

### Un ruido intenso puede ocasionar alteraciones en:

#### Sistemas:

- gastrointestinales,
- inmunológicos,
- reproductivos,
- nerviosos, y
- cardiovasculares.

El número de  
los glóbulos  
sanguíneos.

La ingestión de  
alimentos.

El nivel de  
hormonas.

El desarrollo.

La estructura  
suprarrenal.

El comportamiento.

El metabolismo.



*Ruidos intensos y súbitos pueden provocar sobresaltos y acelerar la aparición de crisis epileptiformes en varias especies y cepas de animales de laboratorio.  
Emisiones de ultrasonidos pueden ocasionar perturbaciones al comportamiento en los animales.*

El ruido se puede controlar en los Bioterios mediante un diseño y construcción apropiada, una selección atenta del equipo, buenas prácticas y manejo adecuado. Se debe tener en cuenta que las alarmas de incendio que operan a baja frecuencia son per-

ceptibles por el hombre, pero no perturban ratones y ratas. Del mismo modo, muchas fuentes de ruido emiten ultrasonidos, los cuales son perturbados por los animales y no a los humanos; como lo son grifos que gotean, chillidos de puertas y de sillas.

# LEGISLACION PARA EL USO DE ANIMALES EN LABORATORIO

En principio, los protocolos y otras regulaciones relativas a la investigación biomédica imponen los ensayos con animales como una verdadera obligación a cumplir en forma previa a la investigación y utilización de ciertos productos en humanos. Al respecto se pueden citar varias fuentes; así, según el Código de Núremberg cualquier experimento hecho en seres humanos “debe ser diseñado y basado en los resultados de investigación animal”.

La Declaración de Helsinki, adoptada en 1964 por la XIII Asamblea Médica Mundial y revisada en cinco ocasiones, siendo la última versión 2008, cita también que la investigación médica en sujetos humanos “debe estar basada en pruebas de laboratorio adecuadamente realizadas y en experimentación con animales”. En la misma línea, la Organización Panamericana de la Salud –OPS, expresó en su XI Reunión Interamericana de 1980: “Los países que han logrado un gran avance en el control de las enfermedades humanas y animales son aquellos que han establecido entidades que se dedican al mejor desarrollo de la Ciencia de los Animales de Laboratorio”.

Por otra parte, existe una tendencia creciente a reducir la utilización de los animales al mínimo posible compatible con la validación científica. La importancia que se concede al bienestar animal está evolucionando en función de consideraciones de índole ética, convertido ahora en una actitud cultural.

## EL DERECHO DEL ANIMAL

El derecho del animal, cuyo reconocimiento se busca, es el de no ser maltratado, torturado o tratado con crueldad. Es a este derecho básico que va dirigida la Declaración Universal de los derechos de los animales aprobados por la Organización de las Naciones Unidas para la Educación- Unesco en septiembre de 1977 y por la Organización de las Naciones Unidas- ONU en 1978. La Declaración expresa, entre otros conceptos, lo siguiente:

### Artículo 2. Todo animal tiene:

- (a) *derecho al respeto;*
- (b) *El hombre, en tanto que especie animal, no pue-*

*de atribuirse el derecho de exterminar a otros animales, o de explotarlos violando este derecho. Tiene la obligación de poner sus conocimientos al servicio de los animales;*

*(c) Todos los animales tienen derecho a la atención, a los cuidados y a la protección del hombre.*

### Artículo 3 dice:

*(a) Ningún animal será sometido a malos tratos ni actos de crueldad;*

*(b) Si es necesaria la muerte de un animal, ésta debe ser instantánea, indolora y no comportará angustia alguna para la víctima.*

### Artículo 8:

*(a) La experimentación animal que implique un sufrimiento físico o psicológico es incompatible con los derechos del animal, tanto si se trata de experimentos médicos, científicos, comerciales, o de cualquier otra forma de experimentación;*

*(b) Las técnicas alternativas deben ser utilizadas y desarrolladas.*

Se pretende, entre ello, intensificar la promoción de la elaboración, validación, aceptación y aplicación de métodos alternativos y proporcionar una base sólida para la plena aplicación del principio de reemplazar (o sustituir), reducir y refinar (o perfeccionar) la experimentación con animales; conocido como el principio de las tres R- Reemplazo, Reducción y Refinamiento.

En definitiva, la utilización de animales en procedimientos científicos sigue siendo fundamental para garantizar la seguridad de los seres humanos, los animales y el medio ambiente y, en consecuencia, poder aumentar los conocimientos que conduzcan a mejorar la salud y el bienestar de los seres vivos.

## PARTICULARIDADES DEL ANIMAL TRANSGÉNICO

En los últimos años, y debido sobre todo al enorme avance en los conocimientos sobre las bases moleculares de las enfermedades, ha surgido la necesidad de disponer de modelos genéticamente definidos, es decir, modelos en los cuales las mutaciones genéticas que predisponen o participan en el



desarrollo de la enfermedad puedan ser controladas. Esta necesidad, unida al gran avance en tecnología para la manipulación genética en mamíferos, ha conducido al desarrollo de modelos animales modificados genéticamente.

El primer ratón transgénico de laboratorio se remonta al año 1974, llamado Ratón de Brinster; actualmente existen unas 1.000 razas de ratones knock-out.

Un ratón knock-out es un animal mutante que carece de la expresión específica de un gen, eliminado por mutación dirigida.

En el ámbito jurídico estas especies han producido un gran debate en la esfera de la propiedad industrial; aunque la regulación parece decididamente inclinada a la patentabilidad, los debates éticos no están resueltos ni la opinión al respecto es unánime.

Tampoco hay que descartar para el futuro la posibilidad de fabricar animales transgénicos para tener órganos que resulten más compatibles para los trasplantes, pero como es bien conocido, este uso genera dilemas éticos.

### CONTENIDOS MÍNIMOS PARA UNA LEY REGULADORA DEL USO DE ANIMALES EN LABORATORIOS

En general, se entiende que una ley base debe condicionar la investigación con animales a los siguientes recaudos mínimos:

- a. Inexistencia de otra alternativa.
- b. Minimizar el sufrimiento del animal.
- c. Exigir objetivos claros en cada proyecto que autorice el uso de animales; los animales pueden ser utilizados para trabajos que tengan por finalidad el mejoramiento de la salud humana y animal, no pueden ser utilizados para testear el control de calidad de productos que no tienen por finalidad esa salud.
- d. Evitar la repetición de trabajos.
- e. Obligar a una detallada y completa publicación de los resultados.
- f. Generar medidas eficaces para la instrucción y capacitación del personal profesional y técnico de los laboratorios y Bioterios.

- g. Establecer buenas prácticas de sujeción, inyección, analgesia, anestesia y eutanasia.
- h. Regular las condiciones de alojamiento.
- i. Proteger en el máximo posible el uso de la fauna silvestre.
- j. Prever reglas que individualicen a los responsables del incumplimiento de estas normas.
- k. Establecer comités de ética, centralizados o no, que controlen el cumplimiento de las reglas existentes y desarrollen nuevas conforme el avance científico.

En Argentina, si bien se recibe regularmente información sobre las reglamentaciones éticas y la legislación internacional referente a la cría y uso de animales de experimentación, no se ha conseguido crear una legislación al respecto ni modificar muchas de las conductas y condiciones inapropiadas en el uso de animales en proyectos de investigación y desarrollo.

### LA DECLARACIÓN UNIVERSAL DE LOS DERECHOS DEL ANIMAL,

adoptada por la Liga Internacional de los Derechos del Animal, proclamada en 1978 y posteriormente aprobada por la Organización de las Naciones Unidas para la Educación -Unesco y la Organización de las Naciones Unidas -ONU, comienza afirmando que «todo animal posee derechos» y especifica ciertos deberes generales de respeto hacia el animal.

- Derecho a vivir sin hambre y sin sed.
- Derecho a vivir cómodamente.
- Derecho a vivir sin sufrimiento y enfermedades.
- Derecho a expresar un comportamiento normal
- Derecho a vivir sin miedo y angustia.

Estas declaraciones generales pretenden expresar ciertas aspiraciones ideales. Se ha comenzado en casi todos los países desarrollados a promulgar algunas medidas protectoras. Podemos asumir que tienen derechos desde el momento en que existe una legislación para protegerlos o que se aplican unas medidas de protección.

Cabe aplicar la Ley 14.346 sancionada el 27 de Septiembre de 1954, llamada “Protección de los Animales contra actos de crueldad”, donde en los inci-

los 1, 2, 3, 4 y 5 del Art. 3° se hace referencia a la experimentación con animales.

Teniendo en cuenta que esta ley que actualmente regula ésta actividad en nuestro país fue sancionada hace más de 50 años, en el año 1994 la Asociación Argentina de Experimentación con Animales de Laboratorio -AADEAL, actual Asociación Argentina para la Ciencia y Tecnología en Animales de Laboratorio -AACyTAL, elaboró y presentó a la comunidad científica y al parlamento un Proyecto de Ley para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio que

fue aprobado en el año 1995 por la Cámara de Diputados de la Nación, pero nunca llegó a tener tratamiento en la Cámara de Senadores la Nación.

En el año 2001 AADEAL vuelve a presentar a la comunidad científica el Proyecto de Ley, corregido, para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (Boletín AADEAL Nro. 15 y 16, 2001).

La versión definitiva es la que se presenta en el Boletín AACyTAL N° 33 Abril, 2010 aunque luego éste proyecto nunca fue tratado en el Congreso de la Nación Argentina.