



Material de consulta para la investigación con animales

Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales
Comité de Bioética

Aprobados por el H. Consejo Académico de la Facultad de Ciencias Naturales en su sesión ordinaria del 26 de febrero 2016.



Material de consulta para la investigación con animales

FUNDAMENTO

Con base en la Ley Federal de Salud Animal (Título tercero, Capítulo I del bienestar de los animales) y la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 (numerales 4.2.2; 4.2.2.1; 4.2.2.2; 4.2.2.3); con el propósito de fomentar un uso racional y humanitario de los animales como objetos experimentales empleados para la investigación, los procesos de estudios, constatación de biológicos, pruebas de laboratorio, extensión y difusión de la cultura, entre otros, que realice el personal académico, administrativo, alumnos de la Facultad de Ciencias Naturales y usuarios visitantes se establece esta guía.

Clasificación de actividades experimentales de acuerdo al Grado de invasión, molestia o daño producido sobre los animales de experimentación, de acuerdo a la NOM-062-ZOO-1999 "Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio".

CATEGORIA A. Experimentos utilizando invertebrados de baja escala: Uso de huevos, protozoarios u otros organismos unicelulares. Uso de metazoarios. Uso de cultivo de tejidos u órganos obtenidos después del sacrificio del animal en el rastro o necropsia.

CATEGORIA B. Experimentos que causan molestia o estrés mínimo: Restricción momentánea del animal con propósitos de observación clínica; toma de muestras de sangre e inyección de sustancias por las vías intravenosa, subcutánea, intramuscular, intraperitoneal u oral. Estudios agudos sin supervivencia del animal encontrándose éste completamente anestesiado. Uso de métodos de eutanasia con inconsciencia rápida del sujeto; por ejemplo, sobredosis de anestésicos. Periodos cortos de abstinencia de agua o alimento equivalentes a lo que pudiera darse en forma natural.

CATEGORIA C. Experimentos que causan estrés menor o dolor de corta duración: Canulación o cateterización de cavidades corporales o vasos sanguíneos mayores bajo anestesia. Procedimientos quirúrgicos menores como toma de biopsias bajo anestesia. Restricción física con objetivos más allá de la simple observación clínica, pero sin llegar a producir estrés importante. Periodos cortos de abstinencia de agua o alimento pero que excedan lo observable en la naturaleza. Estos procedimientos no deben traducirse en cambios significativos de la apariencia física del animal, ni tampoco en la alteración de parámetros fisiológicos como la frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, intensidad de la diuresis y defecación, o bien en su respuesta social o conductual; no debe haber anorexia, automutilación, hiperactividad, somnolencia excesiva, vocalización aumentada, comportamiento agresivo-defensivo o signos de autoaislamiento y retracción social.

CATEGORIA D. Experimentos que causan estrés o dolor moderado a severo: Procedimientos quirúrgicos mayores bajo anestesia general y con sobrevida del

animal. Restricción física prolongada (horas/días). Inducción de estrés conductual tales como privación materna, agresión, interacciones depredador-depredador. Procedimientos que causen alteraciones sensoriales y motoras severas, persistentes o irreversibles. El uso del Adyuvante Completo de Freund; o bien, cualquier procedimiento que, anatómicamente o fisiológicamente, resulte doloroso. Exposición a estímulos nocivos de los cuales no pueda escapar el animal. Producción de enfermedad por radiación. Administración de medicamentos o químicos que alteren la fisiología del animal.

CATEGORIA E. Procedimientos que causen dolor severo al nivel o por arriba del umbral de tolerancia del animal consciente no anestesiado: No solamente se consideran aquí procedimientos quirúrgicos sino exposición a medicamentos o agentes químicos o estímulos nocivos cuyos efectos son desconocidos. Esta exposición supone una marcada alteración de los sistemas fisiológicos pudiendo causar la muerte, dolor severo o estrés extremo. Se deben considerar en esta categoría cualquier experimento biomédico con alto grado de invasión, estudios conductuales de los que se conozca poco su respuesta y efectos al estrés, el uso de paralizantes musculares sin anestesia, la provocación de trauma o quemaduras en el animal no anestesiado, métodos no aprobados de eutanasia, pruebas de toxicidad e infección experimentalmente inducida que tengan como punto final la muerte del animal.

Si en la investigación se utilizaran animales; se debe considerar el principio de las 6 “Erres”

El principio de las seis “Erres”, para la adopción de prácticas experimentales, están basadas en el **Reemplazo** de los animales por técnicas *in vitro*, donde se pueden utilizar modelos anatómicos, simuladores, etc. La **Reducción** del número de animales utilizados en la experimentación que garantice el mínimo estadístico y el **Refinamiento** de los experimentos para minimizar el sufrimiento, la técnica utilizada debe ser la menos invasiva, la menos dolorosa, la técnica de sujeción debe garantizar que el animal no se lastime (Matín, 2014). La **Responsabilidad**, el personal involucrado debe ser legalmente capacitado y responsable de cualquier daño provocado a los animales. Deben estar capacitado de los diferentes grados de molestia, dolor y/o sufrimiento de la especie animal que será utilizada, el **Respeto**, respetar a los animales, que no sufran física y/o mentalmente y la última “R”, sería el **Reubicar**, en las especies que pueda aplicarse se busca que la muerte no sea el único fin de un animal dentro de un experimento. Para los de abasto se busca que sean de utilidad cárnica y para los de trabajo por ejemplo un equino o compañía se busca adoptar a los animales sanos y que no afecten a la comunidad debido a productos peligrosos (Nowak, 2014).

Si en la investigación se requiere el alojar, manipular y/o manejar a los animales, se deben considerar las 5 libertades como requerimientos mínimos

Las cinco libertades o necesidades de los animales, las cuales deben ser cubiertas como mínimo son:

- 1.- **Libertad fisiológica:** que no tengan hambre ni sed
- 2.- **Libertad psicológica:** que no tenga miedo, ni angustia (estrés)
- 3.- **Libertad sanitaria:** que no tenga enfermedades, ni lesiones
- 4.- **Libertad de incomodidad:** que la infraestructura en la que esta, le de confort térmico, descanso y pueda desplazarse libremente de manera natural de acuerdo a su especie
- 5.- **Libertad de demostrar su comportamiento natural:** asociado con la especie, edad, sexo y estado fisiológico. Pudiendo apoyarse en la implementación del enriquecimiento ambiental.

Principios Rectores Internacionales, para la investigación biomédica con animales 2014. Descritas por El Consejo Internacional para la Ciencia de los Animales de Laboratorio (ICLAS) y por Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas (CIOMS).

- 1.- El uso de animales para fines científicos y/o educativos es un privilegio que conlleva obligaciones morales y responsabilidades de las instituciones y los individuos para asegurar el bienestar de estos animales en la mayor medida posible.
- 2.- Los animales deben ser utilizados cuando sea necesario y sólo cuando su uso sea científica y éticamente justificado.
- 3.- Salud y Bienestar Animal: Deben adoptarse medidas para garantizar que el medio ambiente y el manejo son apropiados para la especie y contribuyen al bienestar.
- 4.- La salud y bienestar animal deben ser supervisados y evaluados continuamente durante la investigación, con medidas para asegurar que los indicadores de posible sufrimiento sean detectados rápidamente.
- 5.- El bienestar, el cuidado y uso de animales deben estar bajo la supervisión de un veterinario o un científico entrenado y con experiencia en la salud, el bienestar, el manejo adecuado y el uso de las especies que se mantenga o se estudien.
- 6.- Los investigadores deben asumir que los procedimientos que podrían causar dolor o angustia en los seres humanos causan dolor o malestar en los animales, a menos que haya evidencia de lo contrario.

Principios básicos en la investigación y experimentación con animales:

Los integrantes del comité de Bioética de la Facultad de Ciencias Naturales, enfatizarán los siguientes principios sobre los cuidados de los animales:

- I. Se debe otorgar un trato digno a los animales durante toda su vida; Apegado este a las buenas prácticas existentes y a la normatividad

- vigente en cuanto al Bienestar y Protección animal, así como del Medio Ambiente;
- II. Se debe justificar plenamente y de manera exhaustiva; apoyándose con literatura vigente y relacionada a la investigación, para la utilización de cualquier especie animales.
 - III. El uso de los animales debe tomar en cuenta las características (fisiológicas, biológicas y psicológicas), de cada especie, de forma tal que sea mantenido en un estado de bienestar;
 - IV. En el uso de animales de trabajo, además, se debe considerar una limitación razonable de tiempo e intensidad del trabajo, recibir alimentación equilibrada al tipo de animal, edad y raza, atención sanitaria y descanso necesario. (verificar cuantas horas de trabajo, por cuantas horas de descanso, de sueño, de alimentación y de ejercicio o esparcimiento, según sea el caso en función a la especie animal, edad, raza y estado fisiológico);
 - V. En el uso de animales en confinamiento restringido, como por ejemplo jaulas metabólicas; se debe considerar una limitación razonable de tiempo e intensidad del estudio, recibir alimentación equilibrada al tipo de animal, edad y raza, atención sanitaria y descanso necesario (verificar cuantas horas de encierro, por cuantas horas de descanso, de sueño, de alimentación y de ejercicio o esparcimiento, según sea el caso en función a la especie animal, edad, raza y estado fisiológico).
 - VI. Todo animal debe recibir agua, alimentación, horas de descanso, atención, cuidados y protección por parte de los encargados de la custodia o terceras personas que entren en relación con los animales; ya que cuentan con la responsabilidad de su cuidado (sin importar días de asueto, vacaciones, huelgas o domingos).
 - VII. El animal debe ser capaz de poder llevar a cabo satisfactoriamente sus funciones vitales, y en el caso de que el dolor y/o sufrimiento sean inevitables, se deben tomar todas las medidas posibles para limitar su intensidad y duración.
 - VIII. No se autorizará actividad alguna en la que se cause sufrimiento severo innecesario (Refiérase a las categorías D y E del Grado de invasión, molestia o daño producido sobre los animales de experimentación, de acuerdo a la NOM-062-ZOO-1999)
 - IX. La restricción física prolongada (más de 8 horas), sólo puede ser aceptada si los procedimientos alternos han sido estudiados y considerados como deficientes para la actividad. En tal caso deben tomarse las medidas pertinentes, incluyendo un proceso de adaptación a las condiciones experimentales.
 - X. Son aceptables los procedimientos en los que los animales se mantienen anestesiados y/o insensibilizados al dolor durante todo el procedimiento sin recuperar la conciencia y al final se les aplique la eutanasia.
 - XI. Sólo serán aceptados los procedimientos que involucren estimulación dolorosa de mínima intensidad y/o momentánea que no se alivien con medicación u otros métodos aceptables, cuando los objetivos de la actividad no puedan ser alcanzados con otros métodos.

- XII. Las actividades que impliquen condiciones desfavorables prolongadas o procedimientos que provoquen daños físicos o disturbios metabólicos, requieren de una justificación sustentada en los principios expresados en este Reglamento y en la normatividad vigente. Esto incluye exposición extendida a condiciones ambientales severas y exposición a depredadores.
- XIII. En el caso de animales de laboratorio (roedores y lagomorfos) destinados a la experimentación, preferentemente deberán ser originarios de bioterios certificados.
- XIV. Se debe aplicar la eutanasia inmediata en caso de observarse animales con dolor severo o dolor crónico que no pueda ser aliviado, salvo cuando esta condición esté plenamente justificada y sea esencial para los propósitos de la actividad.
- XV. Están permitidos los procedimientos que involucren el uso de agentes paralizantes y relajantes musculares siempre y cuando se acompañen de métodos que eviten la sensación de dolor y ansiedad.
- XVI. Todo animal perteneciente a una especie silvestre tiene derecho a vivir libre en su propio ambiente natural, terrestre, aéreo o acuático y a reproducirse libremente;
- XVII. En los estudios e investigaciones en las que se requiera la captura de los animales silvestres o en vida libre, se debe considerar lo siguiente: la hora de puesta de la trampa contra el horario de la verificación de la misma, ya que pueden caer en ella animales lactantes y puede poner en riesgo la vida de toda la descendencia. Verificar que la trampa no les cause ninguna laceración o heridas a los animales. Mantenerlos bajo estas condiciones el menor tiempo.
- XVIII. Si se utilizan animales en vida libre, 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. Durante la liberación de estos animales, se deberá verificar horas de liberación con base en la fisiología de los animales, por ejemplo, animales nocturnos no podrán ser liberados durante el día, ya que podrían ser presa de sus predadores naturales. Se deberá verificar también la zona de liberación, que sea apto para esa especie que será introducida o reintroducida a un hábitat.
- XIX. Ninguna persona, por ningún motivo, podrá ser obligada o coaccionada a provocar daño, lesión, a mutilar o provocar la muerte de algún animal.
- XX. Si se someterá a eutanasia se deberá garantizar el uso de técnicas de sujeción que no le causen daño, ni estrés al animal y la técnica de eutanasia será inmediata e indolora. Para ello se debe verificar la especie

animal que se va a eutanasiar y la normatividad nacional o internacional vigente. Se debe asegurar que el equipo a utilizar durante la eutanasia está en perfectas condiciones para evitar el dolor, sufrimiento y estrés del animal.

- XXI. Para los casos de tomas de muestras sanguíneas, o de tejidos en animales en vida silvestre, se deberá garantizar que esa intervención, en el momento de su liberación no atraiga a sus depredadores naturales y ponga en peligro a ese animal.
- XXII. Para cualquier especie animal, si se debe transportar se deberá garantizar, confort del encierro, del transporte, evitar laceraciones o heridas, caídas y resbalones, se deberá evitar el estrés térmico por calor o por frío, ello con base a la fisiología y biología de la especie que se trate.
- XXIII. Cuando la eutanasia se presente como una necesidad por sufrimiento del animal, sea un requerimiento de la actividad o constituya la mejor forma de utilizar al animal, debe tomarse en cuenta lo siguiente: La eutanasia deberá ser efectuada de manera indolora, apropiada para la especie, y de tal forma que se asegure la muerte inmediata. Esto deberá realizarse en concordancia con los procedimientos aceptados por la *American Veterinary Medical Association* AVMA (Panel de eutanasia AVMA 2000), la NOM-062-ZOO-1999 o la NOM-033-SAG/ZOO-2014 (Métodos para dar muerte a los animales domésticos y silvestres), o por los códigos de animales terrestres o acuáticos de la OIE.
- XXIV. La disposición de los cadáveres, debe efectuarse de acuerdo con la NOM-087-ECOL-SSA1-2002. Protección ambiental. Salud Ambiental, Residuos peligrosos biológico-infecciosos. Clasificación y especificaciones de manejo

Los procedimientos quirúrgicos deberán atender consideraciones éticas estrictas y en ese sentido deberá tomarse en cuenta que:

- I. Todos los procedimientos quirúrgicos deben ser conducidos bajo la supervisión directa de un MVZ que sea competente entrenado y capacitado en la aplicación de estos procedimientos.
- II. Durante el manejo y supervisión postoperatoria debe incluirse el uso de analgésicos y antibióticos.
- III. Los animales no deberán ser sometidos a procedimientos quirúrgicos sucesivos, ni a cirugías múltiples en el mismo animal sin la aprobación del Comité de bioética y con plena justificación.

RECOMENDACIÓN DE ALGUNAS NORMAS NACIONALES E INTERNACIONALES

Para ello las investigaciones y experimentación, se deberán apegarse a las normas nacionales e internacionales en materia de uso, cuidado y muerte de los animales en estudio y/o experimentación o para investigación. Así como el obtener los permisos de las comunidades en donde se realizarán estudios de campo o estudios poblacionales. Algunas de las normas recomendadas son: NOM-062-ZOO-1999, NOM-033-SAG/ZOO-2014, NOM-024-ZOO-1995, NOM-051-ZOO-1995, NOM-045-

Z00-1995, NOM-085-SEMARNAT-1994, NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002, NOM-059-ECOL-1994, NOM-052-SEMARNAT-2005 código sanitario para los animales terrestres (OIE, 2014) y código sanitario para los animales acuáticos (OIE, 2010), entre otras.

EUTANASIA

La eutanasia (*eu-tanatos*, buena muerte) es un método humanitario de matanza, que debe de producir el menor sufrimiento posible (dolor, angustia y miedo). Se emplea en animales de investigación cuando finaliza el experimento.

Una adecuada planificación de la investigación y sus necesidades, reduce sustancialmente la matanza inútil de animales excedentes y esto debe ser obligación de todo investigador, correctamente coordinado con los responsables de producción.

Toda técnica eutanásica ha de garantizar la ausencia de dolor o angustia; el método debe ser indoloro y libre de estrés facilitando una inconsciencia y muerte rápidas. Para ello, el método será apropiado para la edad, especie y estado de salud del animal. Por otra parte, para el operador el método ha de ser fiable, reproducible, irreversible, sencillo de administrar y seguro, facilitando una inmovilización mínima del animal.

Los animales se pueden considerar candidatos a eutanasia por varios motivos:

- Al final de un experimento o cuando pudieran proseguir con efectos adversos;
- Para obtener sangre u otros tejidos con un fin científico;
- Cuando existe dolor, angustia y sufrimiento;
- Cuando el campo de estudio sea la salud o el bienestar de los animales;
- Cuando ya no sean aptos para la cría;
- Animales no utilizados, o aquellos que, por sus características, no sean adecuados, por ejemplo, el tipo de animal o el sexo y que por ello no son necesarios (denominados en los bioterios como excedentes).

Los signos típicos de dolor y angustia en la mayoría de las especies animales, incluyen los siguientes signos: conducta de huida, inmovilización, defensa o agresividad, vocalizaciones de angustia (no siempre audibles por el hombre), taquicardia, jadeo, micción, defecación y evacuación de los sacos anales, aumento de la salivación y sudoración, contracciones reflejas de la musculatura esquelética y dilatación pupilar. Todos estos signos deben evitarse si el procedimiento eutanásico es correcto. Igualmente está totalmente prohibido la eutanasia o muerte de un animal en presencia de otros animales, ya que les induce miedo y angustia.

Un aspecto aparentemente sencillo, pero de gran importancia es la confirmación de la muerte. Los signos indicativos son varios y se presentan simultáneamente. Los más habituales son la ausencia de ventilación pulmonar y latido cardíaco, asociados a la ausencia de reflejos, dilatación pupilar y cianosis de las mucosas por falta de

oxigenación. Hay que tener en cuenta que es posible la aparición de algunos de estos signos aislados durante el curso de la anestesia, que no implican necesariamente la muerte del animal.

Tanto el procedimiento de eutanasia, como el de confirmación de la muerte, han de ser realizados por personal entrenado en el manejo del animal, ya sea mediante procedimientos físicos de sujeción o inmovilización o por medio de fármacos tranquilizantes o anestésicos. La inmovilización física debe ser suave pero firme, similar a la que podría realizarse en otros procedimientos menores que no impliquen la muerte del animal. Existen equipos diseñados para facilitar la tarea de eutanasia cumpliendo con los objetivos planteados de reducción del dolor, angustia o miedo.