

FUNDAMENTOS DEL TRABAJO CON ANIMALES DE LABORATORIO EN PROYECTOS DE INVESTIGACION

PEREZ, Graciela R.

Médica Veterinaria del Bioterio que depende del Comité de Docencia e Investigación del Hospital J. M. Ramos Mejía - GCABA.

INTRODUCCION

Bioterio es el lugar donde se alojan los animales que actuarán como modelos estandarizados en las investigaciones biomédicas, pruebas diagnósticas y en el control de productos farmacéuticos.

Los animales de laboratorio, no sólo son individuos que nacen y crecen bajo condiciones diferentes a las que encontrarían en la naturaleza, sino que además se enfrentan a las maniobras experimentales.

El hecho de atravesar diversas situaciones para las cuales no están habilitados a responder, genera un nivel de estrés que afecta tanto la vida del animal como el resultado de los trabajos de investigación.

En este artículo haremos mención a características generales de los animales, del ambiente, y a pautas para evaluar alternativas al momento de diseñar un trabajo experimental.

INTRODUCTION

Bioterio is the place where they lodge the animals that will act as models standardized in the biomedical investigations, you prove diagnostic and in the control of products farmacéuticos.

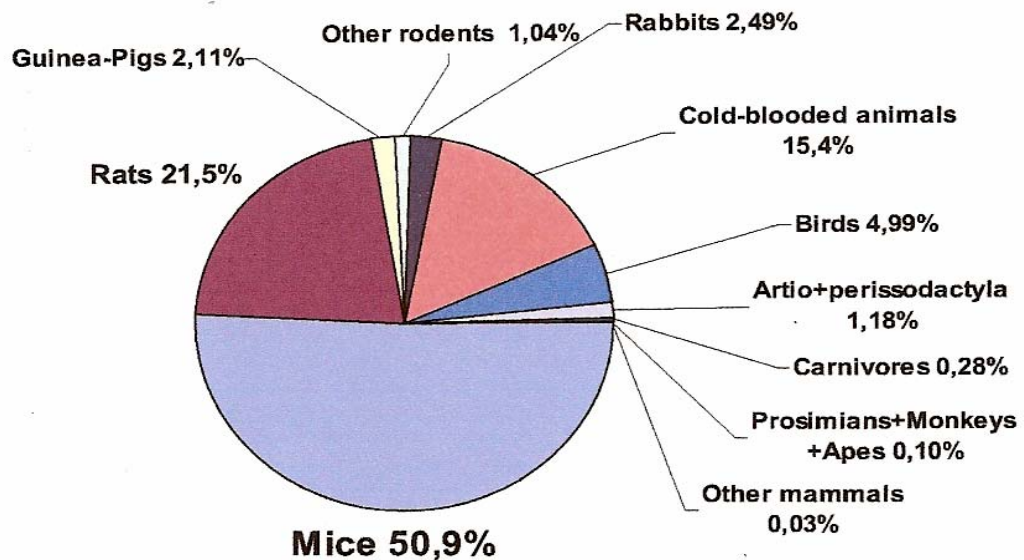
The laboratory animals, are not only individuals that are born and they grow under conditions different to those that would find in the nature, but rather they also face the experimental maneuvers.

The fact of crossing diverse situations for which are not enabled to respond, generates a estrés level that affects the life of the animal so much as the result of the investigation works.

In this article we will make mention to general characteristics of the atmosphere, of the animals, and to rules to evaluate alternative to the moment to design an experimental work.

LOS ANIMALES

Entre las especies más utilizadas, según podemos observar en el gráfico, el **ratón** es el animal de elección con el 51%, seguido de la rata con el 22%. La suma de roedores y conejos, estaría superando las tres cuartas partes del total de animales usados con fines experimentales.



Haremos mención a otras especies que aunque menos utilizadas, son muy buenos modelos para determinadas líneas de investigación. Citaremos a los cobayos, hamsters, hurones, perros, gatos, ovejas, cerdos, anfibios, reptiles, peces y primates entre otros.



Zebra fish



Guinea pig

Debemos tener en cuenta que para el buen funcionamiento de un bioterio, es necesario contar con infraestructura, equipamiento y recursos humanos adecuados.

Considerando las limitaciones presupuestarias del hospital hoy día, intentaremos adecuar el enfoque hacia las especies más accesibles conforme a lo dicho anteriormente.

Describiremos sintéticamente al ratón y la rata como modelos experimentales.

ROEDORES DE LABORATORIO

Taxonómicamente, los roedores están comprendidos dentro del Orden **Rodentia**, el cual es el más numeroso dentro de los Mamíferos, contando con aproximadamente 2.000 especies.

El género **Rattus** (rata) y el género **Mus** (ratón), ambos pertenecientes a la Familia **Muridae**, se separaron hace aproximadamente 10 millones de años.

EL RATON



Como vimos anteriormente, ésta es la especie más utilizada por los investigadores. El hecho de que así sea, se debe principalmente a las características que presentan, como ser:

Buena adaptación a vivir en animalarios.

Mantenimiento sencillo y económico.

Son de talla pequeña.

Con corto tiempo generacional.

Son animales prolíficos.

Buena performance reproductiva a lo largo de todo el año.

Soportan bien la consanguinidad.

Dentro de los mamíferos, el ratón tiene el honor de compartir con el hombre, el hecho de ser el animal mejor estudiado genéticamente.

Se dispone de gran cantidad de Líneas de Animales: Consanguíneos (Inbred Strains), Congénicas, Mutantes y Transgénicas, como así también de Colonias de Animales No Consanguíneos (Outbred Stocks) y de Híbridos F1.

Contamos con modelos murinos para el estudio de enfermedades hereditarias simples y complejas.

Enfermedades hereditarias simples (mendelianas): Mencionaremos a las comprendidas en desórdenes neurológicos, neuromusculares, auditivos y visuales; como así también el estudio de las enfermedades de huesos y cartílagos; piel y pelo; enfermedades metabólicas, anemias e inmunodeficiencias entre otras.

Enfermedades hereditarias complejas (multigénicas): dentro de ellas incluiremos el estudio del cáncer, obesidad y diabetes.

LA RATA



Es la segunda especie más usada en investigaciones biomédicas.

Podemos decir que es de elección para algunos protocolos, por tener mayor tamaño con respecto al ratón.

Es un animal modelo para trabajar en inmunogenética de transplante de órganos.

Es elegida para trabajar sobre enfermedades cardiovasculares y también en epilepsia.

Se usa para el estudio de enfermedades de genética compleja como cáncer, diabetes, obesidad e hipertensión.

EL AMBIENTE

Al momento de concebir un bioterio, tendremos que considerar la elección del sitio de emplazamiento y sobre todo en la construcción del mismo, tener en cuenta una correcta distribución de las diferentes áreas de trabajo.

Distinguiremos las zonas sucias de las zonas limpias y se contemplarán barreras sanitarias para el personal, los animales y los insumos.

En el interior del bioterio se requiere trabajar bajo ambiente controlado, esto significa que debemos estabilizar la mayor cantidad de variables que podamos. Incluiremos aquí:

Control de la temperatura, la cual en términos generales, debe mantenerse entre los 18 y 22 °C.

Se recomienda una humedad relativa del 50 al 60%.

Para el caso de la iluminación, tendremos en cuenta la duración del fotoperíodo, la intensidad lumínica y la longitud de onda. En general el período de horas luz/oscuridad más utilizado, es el que alterna 12 hs. de luz con 12 hs. de oscuridad. Se recomienda en general el uso de tubos fluorescentes luz día.

En lo referente a la aislación acústica, diremos que hay que evitar los ruidos fuertes y súbitos. También tendremos en cuenta, que los animales perciben frecuencias que nosotros no podemos. Por ejemplo, bisagras de puertas, grifos que gotean, ruedas de sillas y carritos; relojes, timbres y teléfonos, inclusive los monitores de computadora son perturbadores y estresantes.

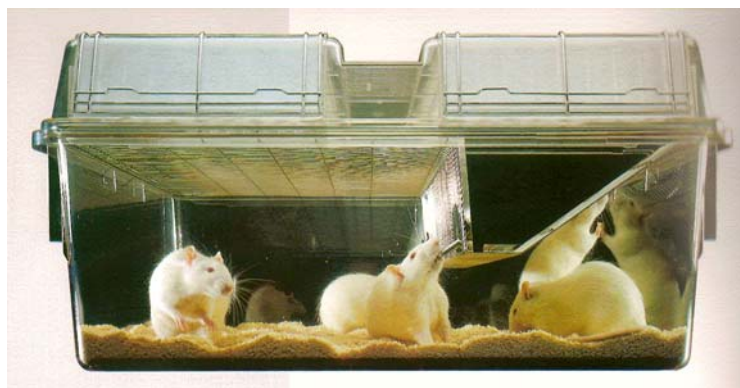
La renovación del aire de las salas debe ser completa, y estará programada para que se renueve de 15 a 17 veces por hora como mínimo.

Debe evitarse que se produzcan corrientes de aire.

Dado que hay diferentes requerimientos según la especie, los parámetros se ajustarán para cada caso en particular.

EL MICRO-AMBIENTE

En lo que respecta al ambiente propio del animal, tendremos que elegir el tipo y tamaño de la jaula o caja donde éste se alojará, como así también las características que deben reunir los bebederos y comederos.



El piso que utilizemos dependerá de la especie y de la tarea que vayamos a realizar. Para el caso en que optemos por el uso de cama, el material de la misma deberá reunir determinadas características.

Por ejemplo, si elegimos la viruta de madera, ésta tendrá que ser atóxica, sin polvillo, blanda y de árboles blancos (coníferas); como tratamiento, la viruta será irradiada o autoclavada.

ALIMENTACION

Por lo general, se utilizan alimentos balanceados, pudiendo administrarse en algunos casos alimentos naturales.

La dieta deberá contener los nutrientes necesarios para cubrir los requerimientos del animal. Tendremos en cuenta no solo la formulación adecuada para la especie, sino también la etapa del animal. De ser necesario, se administrará un suplemento dietario.

Los controles de calidad del agua para consumo, consisten en el análisis físico, químico y bacteriológico de la misma.

ANALISIS DE ALTERNATIVAS

“Principios de las 3 R’s” en el uso de animales de experimentación.

Establecido por Russell y Burch

Al momento de hacer el diseño de un trabajo que involucre animales, es fundamental tener en cuenta el estudio de otras opciones.

Para ello contamos con las “3 R’s”, basadas en el Reemplazo, el Refinamiento y la Reducción.

1.- REEMPLAZO:

De ser posible usar un sustituto del animal:

- * Sistema inanimado (programa de computación, mannequi),
- * Especie de orden filogenético menor o Invertebrados,
- * Cultivo de tejidos o células.

2.- REFINAMIENTO:

Aquí incluimos varios aspectos de la metodología de trabajo:

Entrenamiento en el manejo de la especie y en las prácticas de sujeción.

Saber detectar síntomas de dolor, disconfort o estrés.

El uso de sedantes, anestésicos y analgésicos.

Perfeccionamiento de las técnicas quirúrgicas. Asepsia.

Cuidados post-quirúrgicos.

Uso de Rx, tomografías para detectar tumores.

Uso de técnicas no invasivas o telemétricas.

Métodos de eutanasia y determinación temprana del punto final.

3.- REDUCCION:

Se intenta disminuir la cantidad de animales a utilizar:

Trabajaremos con una muestra que contenga el número mínimo necesario para asegurar la significación estadística.

Coordinar entre los investigadores el uso conjunto de un animal o lote de animales.

Se evitarán las duplicaciones innecesarias.

Controlar los factores ambientales.

Utilizar animales genéticamente definidos.

Clasificar los animales según su carga microbiológica.

Sustitución de DL50 clásica por Fixed Dose o Up and Down (dosis secuenciales).

Publicación de los experimentos con resultados negativos.

BIOTERIO DEL HOSPITAL RAMOS MEJIA

Se encuentra ubicado en el segundo piso del Pabellón de Anatomía Patológica.

Está diseñado en dos plantas. En la planta inferior, se encuentra el quirófano y un sector destinado a la preparación del material obtenido. Se cuenta con mesadas azulejadas, piletas con agua fría-caliente y buena iluminación.

La planta alta es el sector destinado al alojamiento de los animales. Se ingresa a una sala en la que hay un total de 38 caniles, los cuales están contruidos en dos hileras superpuestas de piso a techo, 19 superiores y 19 inferiores; son de mampostería con puerta de reja.

Hay un área de lavado en la que se realiza la limpieza y desinfección de las jaulas. La misma cuenta con un piletón y mesadas, y está provista de agua fría y caliente.

A través de ésta sala, se accede a la terraza donde se encuentran tres recintos divididos entre sí por una pared. Tienen frente y puerta de alambre tejido, un alero construido con chapas de fibrocemento, piso de baldosas, comederos y bebederos de mampostería. En uno de estos recintos, se ubican las conejeras con capacidad para albergar a seis animales.

Dentro del bioterio se encuentran actualmente trabajando una médica veterinaria y un cuidador.

LEGISLACION, ETICA Y ENTES REGULADORES

NACIONALES e INTERNACIONALES para Animales de Laboratorio.

En la República Argentina, los trabajos de investigación biomédica, deben llevarse a cabo cumpliendo con las regulaciones establecidas en el país y atendiendo a los principios descritos en las guías internacionales.

EN ARGENTINA

- * Ley Nacional 14346. “Protección de los Animales”. Sobre malos tratos y actos de crueldad. Septiembre 1954.
- * Disposición 6344/96 “Requisitos para Bioterios de entidades que regula” - ANMAT (Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica).
- * Resolución 617/02 SENASA (Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria) “Requisitos, condiciones y procedimientos para la habilitación técnica de laboratorios que posean bioterios de producción, mantenimiento y local de experimentación”.
- * Resolución CD 140/00 Facultad de Ciencias Exactas y Naturales – UBA. “Reglamento para el cuidado y uso de animales de laboratorio en la facultad”.
- * Resolución CS 4081/04 “Reglamento para el cuidado y uso de animales de laboratorio en la Universidad de Buenos Aires”.

INTERNACIONALES

- * “La Guía” del NIH - “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals”. NCR/USA/1996.
- * CIOMS - Ginebra 1985 - Comunidad Económica Europea.
- * Directiva 86/609/CEE - Comunidad Económica Europea (CCE).

CONSIDERACIONES FINALES

Hay un compromiso que incluye a toda persona que trabaje dentro de este ámbito, y es el respeto por los derechos del animal, garantizando su bienestar general y buen trato.

Esto puede lograrse adquiriendo los conocimientos básicos de manejo y aplicando los principios éticos.

Procurar el bienestar de los animales de laboratorio es parte importante de la ciencia.

Correo electrónico Bioterio Hospital Ramos Mejía:
bioteriohrm@yahoo.com.ar

BIBLIOGRAFIA

Institute of Laboratory Animal Resources, National Research Council
“Guide for the Care and Use of Laboratory Animals”
National Academy Press, Washington, 1996.

“Directiva 86/609-CEE” - Disposiciones legales reglamentarias y administrativas de los estados miembros, respecto a la protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos”
Consejo de las Comunidades Europeas, 1986.

Comisión Honoraria de Experimentación Animal.
“Manejo de Animales de Experimentación: Tradicionales y no tradicionales”.
FEFMUR, Universidad de la República, Uruguay, 2006.

Fernando J. Benavides y Jean-Louis Guenet
“Manual de Genética de Roedores de Laboratorio”
Universidad de Alcalá y SECAL. España, 2003.

Castillo Menéndez R.
“Animales de Laboratorio en las Investigaciones Biomédicas”
Editorial Ciencias Médicas, La Habana, 1985.

Fox J.G., Anderson, L.C., Loew, F.M., Quimby, F.W. (Eds.)
“Laboratory Animal Medicine” 2º Ed.
ACLAM Series, 2002.

Hau J. and van Hoosier G.L. (Eds.)
“Handbook of Laboratory Animal Science” – 2º Ed. Vol III; Animal Models.
CRC Press, Boca Raton, FL 2005.

Gordon J.W.
“Transgenic technology and Laboratory Animal Science”
ILAR Journal 38, 1997.

ILAR Committee on Laboratory Animal Housing
“Laboratory Animal Housing”
National Academy of Sciences, Washington D.C., 1978.

Council of International Organizations of Medical Societies.
“International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals”.
CIOMS, Geneva 1985.