

INSTRUCTIVO FORMULARIO BIENESTAR ANIMAL para GM

1.1. DATOS DEL INVESTIGADOR RESPONSABLE DEL PROYECTO:

Persona que dirige el proyecto y en general, es el responsable de la financiación del mismo.

1.2. DATOS DEL INVESTIGADOR RESPONSABLE DEL PROCEDIMIENTO:

Persona que estará a cargo de la manipulación experimental de los animales y a quien se contactará en caso de urgencia/emergencia.

1.3. FORMACIÓN Y ACTIVIDADES DE TODAS LAS PERSONAS IMPLICADAS EN EL PROCEDIMIENTO:

TODAS las personas que estarán a cargo de la manipulación de los animales vivos, incluyendo personal encargado de limpieza y cuidado de los mismos deberán tener formación específica¹.

Cursos de formación en manejo de animales de experimentación: informar qué tipo de capacitación posee cada persona para trabajar con animales de experimentación, por ejemplo: curso FELASA, Cursos de universidades, curso INTA, etc. Incluir carga horaria del curso recibido.

Aún el personal veterinario debe acreditar capacitación específica en animales de experimentación como ratones, ratas, cobayos y conejos. Si no cuenta con ningún tipo de capacitación formal, pero tiene experiencia en la manipulación de animales de laboratorio, aclárelo en una frase, indicando la cantidad de tiempo que ha manipulado animales. Sin embargo, el comité sugiere fuertemente a todo el personal involucrado en la manipulación de animales, que realice cursos de capacitación formal y continua.

Responsabilidad en el procedimiento: indicar qué tareas realizará cada persona involucrada en el procedimiento (por ejemplo: extracción de muestras, inoculación de activos, cuidado y limpieza, etc.)

2. DATOS DEL PROCEDIMIENTO

2.1. TÍTULO DEL PROCEDIMIENTO:

Debe constar una descripción breve de lo que se hará, con qué fin y en qué especie. Debe ser un resumen muy breve y bien explicativo del procedimiento. Por ejemplo: "Evaluación de la capacidad protectora de distintos candidatos vacunales para la prevención de la tuberculosis en bovinos". Se entiende por procedimiento a toda utilización de un animal con fines científicos o de docencia que pueda causarle dolor, sufrimiento, angustia o daño prolongado, incluida toda actuación que pueda dar lugar al nacimiento de un animal en las condiciones anteriores. No se debe confundir un procedimiento con un proyecto de investigación. Un proyecto puede incluir varios procedimientos.

2.2. OBJETIVO DEL PROCEDIMIENTO:

Explicar brevemente con qué fin se realiza el procedimiento (por ejemplo: evaluar la respuesta de anticuerpos de la formulación vacunal xxx). No confundir con el objetivo del proyecto.

2.3. N° de Expediente SAGyP

Será el número de Expediente asignado por la SAGyP para la solicitud en condiciones confinadas.

1-Curso de animales de experimentación de al menos 40 hs.

2-Rs. N° 79/2017 - Pto. 5.10 IDENTIFICACIÓN INEQUÍVOCA DE LOS ANIMALES REGULADOS

2.4. OBJETIVO DEL PROYECTO:

Sintetizar muy brevemente el objetivo general del proyecto en el cual se enmarcan los procedimientos descritos en el formulario.

2.5. FECHA Y DURACIÓN DEL PROCEDIMIENTO:

Fecha estimativa de inicio de las actividades. Tenga en cuenta que esta fecha va a estar sujeta a la autorización otorgada para el inicio de actividades por parte de la autoridad de aplicación (SAGyP) luego de la supervisión/inspección que realiza el Servicio Nacional de Calidad Agroalimentaria (SENASA) para constatar la concordancia con las condiciones declaradas en la solicitud.

Fecha de finalización. Fecha estimada para el día en que se da por concluido el expediente, previa constatación realizada por el SENASA, establecido en el propio protocolo de investigación.

Duración de proyecto: Duración estimada de acuerdo a la fecha de inicio y finalización de las actividades, declarada previamente.

2.6. DECLARACIÓN DE MÉTODOS ALTERNATIVOS:

En este apartado se debe indicar el motivo por el cual no se plantea aplicar métodos alternativos al procedimiento propuesto marcando la opción correcta. Solo en el caso de seleccionar la opción "otros motivos" se debe utilizar el casillero asignado debajo de esta opción y adjuntar bibliografía que respalde la justificación. Tener en cuenta que se entiende como métodos alternativos a aquellas técnicas o estrategias experimentales que cumplen con el principio de las tres erres (reducción del número de animales, refinamiento de la técnica y reemplazo de animales por otras técnicas). Para más información ver: <http://www.remanet.net/>

Justificación del uso de animales: Justificación de la necesidad de usar animales para la obtención de los resultados perseguidos con el procedimiento. Por ejemplo: si se está evaluando la respuesta inmune frente a una vacuna, no hay posibilidad de recrear la complejidad del sistema inmunológico en un sistema in vitro, por lo tanto se debe utilizar un modelo animal.

2.7. IDENTIFICACIÓN DE LOS ANIMALES²:

Todos los animales involucrados en el proyecto deberán identificarse inequívocamente, para lo cual el solicitante deberá detallar la metodología con la que se identificarán. Deberán incluir una descripción del tipo de señas y de la nomenclatura a utilizarse (código de letras, números, colores, diferencias entre los distintos genotipos o líneas fundadoras, etcétera), y de cualquier otra medida a aplicarse para identificar inequívocamente a dichos animales. Todos los animales generados en el marco del proyecto (posibles GM, no-GM y GM) y su progenie, deberán tener una seña distintiva que los diferencie de otros animales cuyo linaje esté libre de animales posibles GM (animales donantes de gametas o calostro, hembras receptoras, etcétera). Dicha nomenclatura deberá ser de uso exclusivo para cada solicitud y sólo podrá modificarse previa autorización fehaciente de la CONABIA.

En todos los casos será el SENASA quién determine la forma de identificación sobre la base de la normativa existente.

2.8. ORIGEN DE LOS ANIMALES:

1-Curso de animales de experimentación de al menos 40 hs.

2-Rs. N° 79/2017 - Pto. 5.10 IDENTIFICACIÓN INEQUÍVOCA DE LOS ANIMALES REGULADOS

Marque con una cruz la opción correspondiente y no olvide aclarar a continuación, el nombre del lugar de donde se obtienen los animales. En caso de que los animales hayan participado previamente en otra experiencia, se debe indicar en qué experiencia.

2.9. TRANSPORTE DE LOS ANIMALES:

El transporte de animales GM debe ser autorizado por la SAGyP con la correspondiente inspección del SENASA.

2.10. CANTIDAD DE ANIMALES A UTILIZAR EN EL PROCEDIMIENTO:

Número de grupos experimentales: cantidad de grupos en los que se divide el procedimiento.

Número de animales a utilizar por grupo experimental: indique cuántos animales utilizará por grupo. En caso que los grupos tengan diferente nro. de animales, aclárelo. No exprese los valores en intervalos, sino en nro. exacto.

Total de animales: nro. final de animales a utilizar teniendo en cuenta la cantidad de grupos y animales por grupo.

Si por alguna razón el investigador prevé que el nro. de animales a utilizar puede variar entre la fecha en la que presenta la solicitud de aval y la fecha de realización del experimento, debe aclarar qué decisión tomará en el caso de tener menos o más animales de lo previsto inicialmente. Por ejemplo: en el caso de no alcanzar el nro. De animales totales previsto, qué grupo experimental podrá ser eliminado o si se podría reducir o incrementar el n de cada grupo sin afectar la validez de los resultados, etc.

2.11. INSTALACIONES DONDE SE REALIZARÁ EL PROCEDIMIENTO:

Ubicación física de la experiencia.

Se deberán declarar todos los establecimientos los sitios en los cuales se desarrollen los ensayos y los sitios involucrados en cada uno de ellos. Si el procedimiento requiere que los animales sean manipulados en dos lugares diferentes (por ejemplo: se alojan en un sitio y luego se llevan a un box para el desafío/toma de muestras, etc) aclárelo.

Sistema de contención: En el caso que corresponda deberá detallarse el sistema de contención (por ejemplo: jaulas para cobayos) y especificar el tamaño y cantidad de animales por jaula.

Alimentación y bebida (tipo y origen): debe especificarse si es alimento balanceado, pastura, etc. En caso de ser alimento comercial, se debe aclarar el proveedor del mismo. Debe quedar asentado que está asegurada la libre provisión de agua potable.

Tiempo de adaptación a las instalaciones experimentales previo al inicio de la experiencia: todos los animales que se ingresan a los bioterios, a boxes o al campo experimental, deben tener un tiempo de adaptación a su nuevo entorno, antes de que comience su manipulación. Completar con la cantidad de días que se asignarán para tal fin.

3. DISEÑO EXPERIMENTAL

3.1. DISEÑO ESTADÍSTICO:

En caso de que el diseño experimental siga una directriz oficial, se debe aportar una copia del documento. En todos los casos en que se declare una justificación respaldada por directriz oficial o bibliografía, se debe proporcionar al comité una copia de dicha bibliografía adjunta al formulario. Se puede adjuntar copia de la carátula donde consten los datos de la publicación y luego solo las partes relevantes al procedimiento, no es necesario adjuntar la cita completa. Tener en cuenta que tanto la elección del número de animales por grupo como la idoneidad del 1-Curso de animales de experimentación de al menos 40 hs.

2-Rs. N° 79/2017 - Pto. 5.10 IDENTIFICACIÓN INEQUÍVOCA DE LOS ANIMALES REGULADOS

análisis de los datos obtenidos del experimento, son incumbencia del CICUAE ya que se debe asegurar el cumplimiento del principio de las 3Rs (reemplazo, reducción y refinamiento), para lo cual resulta fundamental la utilización del correcto número de animales y las técnicas de muestreo adecuadas para que los resultados sean robustos estadísticamente. Indique si ha planteado desde un punto de vista estadístico, la idoneidad del diseño experimental...: seleccione SÍ o NO según corresponda, si selecciona la opción NO, justifique la causa en el casillero destinado a tal fin (por ejemplo: se trata de una prueba piloto, se usan animales solo para la obtención de un reactivo, se trata de la puesta a punto de una técnica, etc.). Si respondió SÍ, complete todo lo que sigue a continuación.

Indicar cómo se calculó el tamaño de la muestra y qué software utilizó: describa cuáles fueron los parámetros que tuvo en cuenta para calcular el n de los grupos (error tolerable, varianza de la población, etc.) y con qué software lo hizo.

Indicar los parámetros a medir: indicar cuáles son los parámetros que se observarán y que serán sujetos luego al análisis estadístico o al estudio cualitativo. (Por ejemplo: título de anticuerpos en suero, protección frente al desafío, etc.).

Detallar el tratamiento a realizar a cada grupo experimental: completar la tabla con todos los datos de todos los grupos incluidos en el experimento: cuántos animales por grupo (n), qué tratamientos serán aplicados a cada grupo y cualquier descripción u observación pertinente por ejemplo: grupo control, n=5, tratamiento: administración de solución salina, descripción/observaciones: grupo control negativo para calcular el punto de corte de la respuesta de anticuerpos. Si aporta a mejorar el entendimiento del diseño, se puede incluir otra tabla y/o esquemas, pero intentando responder al menos lo solicitado en la tabla original.

Indicar prueba estadística que se aplicará al análisis de los datos y software a utilizar: indicar cómo se tratarán estadísticamente los datos una vez obtenidos y qué software se utilizará para tal fin. Es importante especificar si se comparan medias o proporciones y el tipo de análisis a realizar ya que el número de animales mínimos a utilizar para obtener un resultado estadísticamente robusto, varía de acuerdo al tipo de comparación realizada. Por ejemplo: se compararán los títulos promedio de anticuerpos en cada grupo, respecto del grupo control XX, utilizando ANOVA y Bonferroni como post test, utilizando el programa Infostat.

3.2. METODOLOGÍA:

Línea cronológica: Ejemplo T -3 días: adaptación de los animales; T 0: 1° inoculación del xxx tratamiento; T 20: sangría exploratoria; T 30: desafío; T 60: sangría a blanco y eutanasia. Siempre considere el tiempo de adaptación de los animales a las nuevas instalaciones o dietas antes de comenzar los procedimientos, a menos que el animal haya nacido en el mismo lugar en donde será manipulado.

Toma de muestras: para información sobre técnicas, volúmenes de extracción y frecuencia de extracción aceptadas por el comité, hay guías internacionales para consultar.

Materiales utilizados: En el caso de uso de materiales como cánulas, catéteres, fístulas, electrodos, etc., indicar sus características. Ej. Aguja 21G, cánula rígida con punta olivada, etc.

Administración de agentes biológicos y/o productos: Indicar cualquier principio activo/compuesto biológico/adyuvante/anestésico/analgésico que se administrará al animal durante el procedimiento experimental. Para información sobre volúmenes factibles de ser administrados y vías de inoculación hay guías internacionales. No es necesario completar todas las columnas para cada inóculo, sin embargo el volumen inoculado debe ser declarado obligatoriamente ya que es fundamental para analizar la compatibilidad con la vía de inoculación. Ejemplo: si se inocula un virus, con completar la cantidad de DICT50/ml o ufp/ml

1-Curso de animales de experimentación de al menos 40 hs.

2-Rs. N° 79/2017 - Pto. 5.10 IDENTIFICACIÓN INEQUÍVOCA DE LOS ANIMALES REGULADOS

(concentración) y el volumen del inóculo es suficiente, no es necesario colocar la dosis. Tenga en cuenta que cuando se administren productos activos al animal, se debe indicar el nombre genérico del mismo. Dado que los adyuvantes utilizados en las vacunas son principios activos y en general pueden provocar efectos adversos importantes en el sitio de inoculación, el nombre, vía de inoculación, etc. deben ser declarados en el cuadro.

4. SUPERVISIÓN DE LOS ANIMALES

4.1. CLASIFICACIÓN DE LA SEVERIDAD DE LOS PROCEDIMIENTOS:

Tener en cuenta que es responsabilidad del investigador llevar un registro escrito de los parámetros que serán supervisados, la frecuencia con la que se realiza la supervisión y las medidas de mitigación aplicadas en caso de ser necesario.

Para completar el formulario, indicar con una cruz en el cuadro la escala de severidad del procedimiento, según dolor/malestar provocado a los animales. Clasificación de la severidad de los procedimientos: No recuperación: Procedimientos realizados enteramente bajo anestesia general tras la cual el animal no recuperará la conciencia, por ejemplo: sangría a blanco.

Leve: Procedimientos a consecuencia de los cuales es probable que el animal experimente dolor, sufrimiento o angustia leves de corta duración, así como los procedimientos sin alteración significativa del bienestar o del estado general. Por ejemplo: inoculación intraperitoneal de una vacuna en ratones, sangría exploratoria.

Moderado: Procedimientos a consecuencia de los cuales es probable que el animal experimente dolor, sufrimiento o angustia moderados de corta duración, o leves pero duraderos, así como los procedimientos que pudieran causar una alteración moderada del bienestar o el estado general de los animales. Por ejemplo, inoculación intratraqueal en ratones, extracción de líquido esófago-faríngeo en bovinos.

Severo: Procedimientos a consecuencia de los cuales es probable que el animal experimente dolor, sufrimiento o angustia intensos, o moderados pero duraderos, así como los procedimientos que pudieran causar una alteración grave del bienestar o del estado general de los animales. Por ejemplo, inoculaciones de tumores o virus que provocarán síntomas de infección en los animales.

4.2. PARÁMETROS DE SUPERVISIÓN DE LOS ANIMALES:

Parámetro a evaluar: Describir fases del procedimiento en el que se prevea que el animal puede experimentar alteraciones del bienestar, dolor o angustia y describir de forma detallada el protocolo de supervisión que se utilizará para detectar estas alteraciones, dolor o angustia. Ej.: durante la sujeción, durante los procedimientos de muestreo, inmediatamente después de los mismos, durante la recuperación, a largo término, etc. Tenga en cuenta que los parámetros que el investigador debe observar, no son solo aquellos relacionados con la inoculación y el muestreo sino también con los síntomas de enfermedad que el animal puede padecer la causa del experimento (por ejemplo cualquier síntoma de infección que el animal desarrolle por la inoculación de patógenos) y parámetros que si bien pueden no ser consecuencia directa del experimento, están relacionados con la mantención del animal en condiciones de experimentación como lo son el encierro y la manipulación (por ejemplo: torceduras o quebraduras de patas por pasaje por la manga al muestrear o por su aislamiento en boxes, comportamiento agresivo a causa del encierro en jaulas, etc.).

Momento de inicio supervisión: Se inicia con la inspección del SENASA ya sea junto a la constatación de las instalaciones declaradas, como así también para el transporte de los

1-Curso de animales de experimentación de al menos 40 hs.

2-Rs. N° 79/2017 - Pto. 5.10 IDENTIFICACIÓN INEQUÍVOCA DE LOS ANIMALES REGULADOS

mismos. A su vez será el propio solicitante quien deberá especificar el momento de inicio de los controles a realizar.

Frecuencia de la supervisión: cada cuánto tiempo se procederá a observar a los animales (diariamente, semanalmente, inmediatamente después de la inoculación y al día siguiente, luego de cada extracción de sangre, etc.). Desde la CiyB y/o el INTA, se podrá solicitar la inspección espontánea por parte del SENASA.

Medidas de mitigación: indique qué medidas se adoptarán para mitigar el malestar del animal en caso de ser necesario. (Por ejemplo: separación de los animales en caso de comportamiento agresivo, fluidoterapia en caso de deshidratación, administración de analgésico en caso de detectar dolor). Si no hay medidas de mitigación posibles o no pueden aplicarse debido a causas relacionadas con el experimento, también deberá ser indicado y justificado.

4.3. PERSONAS ENCARGADAS DE LA SUPERVISIÓN DE LOS ANIMALES:

Se debe completar el cuadro con los datos de las personas que efectivamente realizan el control de los animales y que son aquellas a quienes se debe contactar en caso de urgencia/emergencia. Recordar que el investigador responsable del procedimiento es responsable directo del bienestar de los animales que están sometidos a sus experimentos, por lo cual es apropiado y deseable colocar sus datos en este ítem.

4.4. PUNTO FINAL:

Existen dos clases de punto final: el punto final experimental y el humanitario. El punto final experimental es el que ocurre cuando los objetivos científicos han sido alcanzados y deben ser establecidos previamente en el diseño experimental del ensayo. El punto final humanitario es el momento anticipado en el cual se previene, alivia o termina el dolor y/o diestrés del animal mediante acciones tales como: eutanasia, finalización del procedimiento doloroso o administración de un tratamiento para aliviar el dolor y/o diestrés. Ambos puntos finales pueden estar muy ligados en experimentos invasivos como, por ejemplo: modelos de tumores, enfermedades infecciosas, desafíos en ensayos de vacunas, modelos de trauma, producción de anticuerpos monoclonales, evaluación de efectos toxicológicos, etc. El uso de puntos finales humanitarios contribuye al refinamiento suministrando una alternativa al punto final experimental cuando este produce severo dolor y diestrés, o incluye la muerte y se aplican a fin de evitar la agonía prolongada o innecesaria del animal. La eutanasia se define como el acto de inducir la muerte sin dolor ni diestrés, precedido por inconsciencia, seguida de paro cardíaco y respiratorio y por último pérdida de la función cerebral.

Criterios de punto final: Los criterios a tomar en cuenta para aplicar el punto final deben ser claros y concisos, con parámetros cuantificables (ejemplo: pérdida de peso mayor a determinado porcentaje, letargia que dure determinada cantidad de tiempo, etc.) de forma tal que permitan tomar la decisión también a personal pertinente sin depender del investigador responsable. En el caso de sugerirse la eutanasia, la alteración de los parámetros debe ser tal que se sepa que no hay posibilidad de recuperación. Se puede consultar por información referente al tema en:

- <http://secal.es/wp-content/uploads/2014/11/Punto-final.pdf>
- Introduction: Reducing Unrelieved Pain and Distress in Laboratory Animals Using Humane Endpoints. William S. Stokes
- Recognizing Pain and Distress in Laboratory Animals. E. Carstens and Gary P. Moberg
- Defining the Moribund Condition as an Experimental Endpoint for Animal Research. Linda A. Toth
- A Systematic Approach for Establishing Humane Endpoints. David B. Morton
- Humane Endpoints and Cancer Research. James Wallace

1-Curso de animales de experimentación de al menos 40 hs.

2-Rs. N° 79/2017 - Pto. 5.10 IDENTIFICACIÓN INEQUÍVOCA DE LOS ANIMALES REGULADOS

- Humane Endpoints for Genetically Engineered Animal Models. Melvin B. Dennis, Jr.
- Humane Endpoints for Infectious Disease Animal Models. Ernest D. Olfert and Dale L. Godson
- Refinement of Vaccine Potency Testing with the Use of Humane Endpoints. Coenraad F. M. endriksen and Bjorn Steen
- Humane Endpoints and Acute Toxicity Testing. Neil Sass

Eutanasia no programada: se refiere al método de eutanasia que se utilizará en caso de emergencia, es decir en caso de observarse los parámetros que definen el punto final de la experiencia. Puede ser el mismo método previsto para la eutanasia programada, si existiera esta opción, o no. También se debe declarar si se tomarán muestras o no de estos animales antes o después del protocolo de eutanasia no programada.

4.5. DESTINO FINAL DE LOS ANIMALES:

Una vez terminada la experiencia el investigador debe declarar si los animales pueden permanecer disponibles para otras experiencias o no. En caso de respuesta positiva, debe completar el cuadro justificando la no necesidad de eutanasia (Por ejemplo: si los bovinos fueron inoculados con una vacuna experimental que no afecta el bienestar del animal y si el ensayo de desafío no es necesario, estos animales pueden ser re utilizados para otras experiencias). Se incluyen también animales NO GM que participaron en investigaciones de OAGM y MGM.

Protocolo de **eutanasia programada**: en caso de ser necesaria la eutanasia de los animales, se debe completar el cuadro indicando qué método de eutanasia se aplicará. Tener en cuenta que cuando la eutanasia se realiza por medios químicos (por ejemplo: cámara de CO₂), la muerte del animal debe ser corroborada por un segundo método físico (por ejemplo: dislocación cervical). En caso de que luego de la eutanasia por método químico se proceda a la toma de muestra de órganos, no es necesaria la aplicación de un segundo método, dado que la extracción de órganos se considera como un segundo método físico que corrobora la muerte del animal.

Para información sobre métodos de eutanasia se puede consultar: <http://secal.es/wpcontent/uploads/2014/11/Eutanasia1.pdf>.

Además del método seleccionado, se debe completar indicando la droga y dosis a utilizar. Método de disposición final: completar indicando qué se hará con los restos de los animales utilizados, carcasas, etc. (por ejemplo: despostado y cocinado en digestor, descarte en bolsa roja y empresa que se encargará de la eliminación del residuo, etc.)

Será definido en el expediente de solicitud y supervisado por el SENASA.

5. PREVENCIÓN DE RIESGOS LABORALES

En este punto debe señalarse todo lo referente a la seguridad de las personas que manipulan los animales. Solo en caso de seleccionar la opción "otros" se debe completar el cuadro. Si selecciona la opción "agentes biológicos" en caso de tratarse de microorganismos patógenos, debe completar el cuadro indicando cómo se descontaminan los materiales y el lugar de trabajo (por ejemplo: inactivación con lavandina, vircon, etc.)

7. OTROS ELEMENTOS VINCULADOS A LA UTILIZACIÓN DE ANIMALES EN EL PROYECTO QUE PUEDAN RESULTAR DE INTERÉS PARA SU EVALUACIÓN POR LA CICUAE:

Detalle cualquier observación sobre su experimento que le parezca relevante de ser informado al CICUAE y que no se encuentre detallada en ninguna otra parte del formulario

1-Curso de animales de experimentación de al menos 40 hs.

2-Rs. N° 79/2017 - Pto. 5.10 IDENTIFICACIÓN INEQUÍVOCA DE LOS ANIMALES REGULADOS