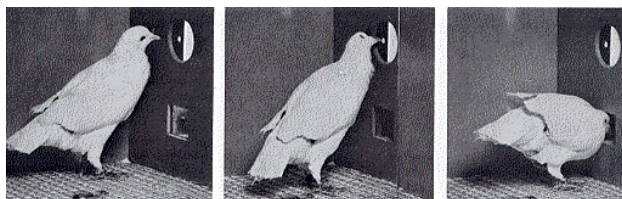
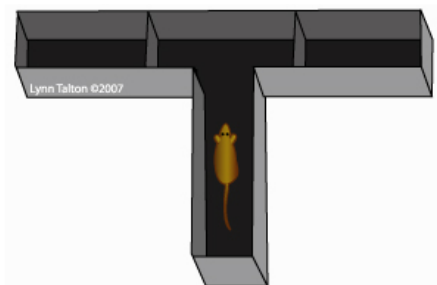




CCiT 

Centres Científics i Tecnològics
UNIVERSITAT DE BARCELONA

Consideraciones éticas en las pruebas de comportamiento con animales



Dra Teresa Rodrigo

Responsable de las Unidades de Experimentación Animal de Farmacia y Psicología de los Centros Científicos y Tecnológicos de la Universidad de Barcelona

Objetivos de los estudios de comportamiento en la investigación con animales

- Caracterización del propio comportamiento y sus determinantes ambientales.
- Correlación con medidas de actividad química o actividad química cerebral para dilucidar los mecanismos cerebrales que se hayan a la base del comportamiento.
- Detección o medición de cambios en funciones cerebrales derivadas de enfermedades, lesiones neuronales, modificación genética, o exposición a diversos tratamientos o agentes.

Multitud de paradigmas experimentales

Cuestiones generales de bienestar animal

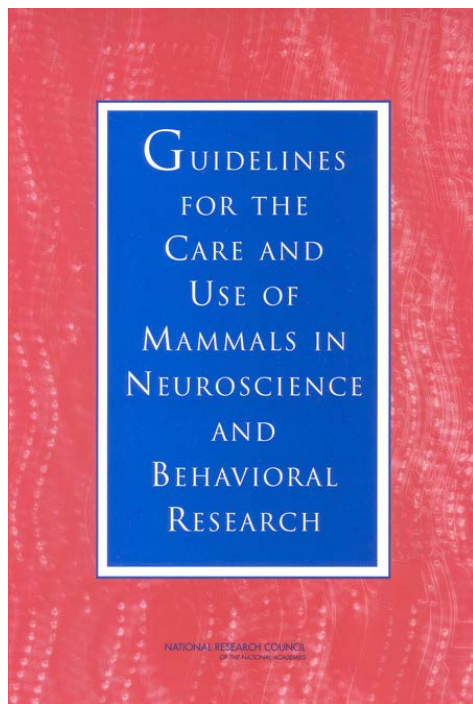


Methods and Welfare Considerations in Behavioral Research with Animals

Table of Contents

BACKGROUND	5
WORKSHOP PARTICIPANTS AND REVIEWERS	7
CHAPTER 1 Introduction	15
CHAPTER 2 Contributions of Behavioral Research with Animals	19
Animal Welfare	20
Rehabilitation Medicine	21
Pain	21
Psychotherapy	22
Biofeedback	23
Stress	23
Effects of Early Experience	25
Deficits in Learning and Memory that Occur with Aging	26
Sleep Disorders	27
References	28
CHAPTER 3 General Considerations	37
Role of Training, Monitoring, Evaluations, Track Record	37
Observation of the Experimental Animals	37
Team Approach to Setting Limits	38
Level Evaluation of the Experimental Variable	38
Species of Animals	38
Stress Versus Distress	38
Role of Adaptation, Habituation, and Conditioning	39
Importance of Species and Ethological Considerations	39
Change in Ethics, Values, and Knowledge	39
Provide Occupational Health Services	39
References	40
CHAPTER 4 Manipulation of Food and Fluid Access	43
Regulated Versus Free Access to Food and Fluids	43
"Treats" Versus Balanced Diet As Food Rewards	44
Species Differences in Weight Regulation	44
General Procedures and Considerations	46
Regulating Access to Fluid	47
Regulating the Taste and Chemical Composition of Food and Fluids	48
A Final Note on Food and Fluid Control	48
References	49

CHAPTER 5 Experimental Enclosures and Physical Restraint	53
Types of Apparatus	53
Considerations	54
References	55
CHAPTER 6 Pharmacological Studies	57
Behavioral Baselines	57
Considerations Related to Housing and Social Grouping	58
Pharmacological Variables	59
Dose-Effect Relationships	59
Drug Vehicles	59
Route of Administration	60
Health Considerations	62
Drug Side Effect	62
Physical Dependence	62
Duration of Drug or Toxicant Exposure	63
Long-Lasting Drug Effects	63
References	63
CHAPTER 7 Aversive Stimuli	67
Aversively Motivated Behavior	67
Electric Shock	69
Stress Research	69
Pain Research	70
Pain Assessment Methods	71
Chronic Pain Models	73
Other Considerations	73
Conclusion	74
References	74
CHAPTER 8 Social Variables	79
Social Variables as Research Topics	79
Population Density	79
Group Formation and Intruder Paradigms	79
Social Separation or Isolation	80
Social Deprivation	80
Behavioral Implications of Manipulating Social Variables	81
Sociability of the Species	81
Group Formation and Intruder Paradigms	81
Gender of the Animal	82
Age of the Animal	82
Type of Social Partner	82
Resource Availability	82
Separation from the Social Group	83
Mother-Infant Rearing	84
Social Manipulations: Exposure to Unfamiliar Animals	84
Mixed Species Interactions	84
Separation from Conspecifics During Development	85
Nonhuman Primates in Social Research	85
Conspecific	86
Surrogate and Isolation Rearing	86
Alterations in Parenting Behavior	87
References	87
CHAPTER 9 Ethological Approaches	91
Passive Observation	91
Enclosures	92
Wild-Caught Animals as Research Subjects	92
References	94
CHAPTER 10 Teaching with Animals	97
References	98
CHAPTER 11 Resources for Further Information	99



Contents

INTRODUCTION

PART I. GENERAL ANIMAL CARE AND USE PRINCIPLES AND CONSIDERATIONS

- 1 REGULATORY AND ETHICAL CONSIDERATIONS
 - US Animal Welfare Act, 7
 - Public Health Service Policy on Humane Care and Use of Laboratory Animals, 8
 - Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 8
 - US Government Principles for the Utilization and Care of Vertebrate Animals Used in Testing, Research, and Training, 9
 - Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care International, 9
 - The 3 Rs, 10

- 2 PROTOCOL-DEVELOPMENT STRATEGIES
 - Team Approach and Shared Responsibilities, 12
 - Pilot Studies, 14
 - Sample Size, 15
 - Pain and Distress, 15
 - Using Animal Behavior to Monitor Animal Health, 23
 - Humane Endpoints, 24
 - Euthanasia, 26
 - Experimental Hazards, 29

- 1
- 8 AGENTS AND TREATMENTS
 - Pharmacological and Toxicological Agents, 109
 - Addictive Agents, 114
 - Physical Agents, 116
 - Modification of Dietary Nutrients, 117
 - Exercise, 118
 - Sleep Deprivation, 120

12

- 3 GENERAL ANIMAL-CARE CONCERNS
 - Training and Supervision, 30
 - Monitoring Expected and Unexpected Consequences, 31
 - Animal Husbandry and Nursing Care, 34
 - Special Environments and Enclosures and Housing of Multiple Species, 36
 - Surgery and Procedures, 37
 - Physical Restraint, 46
 - Food and Fluid Regulation, 49
 - Genetically Modified Animals, 61

PART II. APPLICATIONS TO COMMON RESEARCH THEMES IN NEUROSCIENCE AND BEHAVIORAL RESEARCH

- 4 SURVIVAL STUDIES
 - Anatomic Studies, 71
 - Neurophysiology Studies, 73
 - Imaging Studies, 83
 - Stem Cell and Gene-Therapy Studies, 86
- 5 PROLONGED NONSURVIVAL STUDIES
 - 88
- 6 STUDIES OF NEURAL INJURY AND DISEASE
 - Disease Models, 94
 - Lesions, 97
 - Animal Models Involving Pain, 99
- 7 PERINATAL STUDIES
 - Development of Pain Perception, 102
 - Anesthesia and Analgesia, 104
 - Surgery, Postoperative Monitoring, Cannibalism, and Neglect, 106
 - Identification, Tagging, Tattooing, and Toe Clipping, 107
 - Regulatory Considerations in Fetal Surgery, 107
 - Euthanasia, 108

CONTENTS

- 9 BEHAVIORAL STUDIES
 - Use of Appetitive and Aversive Stimuli, 123
 - Behavioral Screening Tests, 129
 - Neurophysiologic Recording in Awake Behaving Animals, 137
 - Mood-Disorder Models, 140
 - Behavioral Stressors, 142

REFERENCES

APPENDICES

- A SAMPLE SIZE DETERMINATION
 - Experiments to Test a Formal Hypothesis, 175
 - Defining the Hypothesis to be Tested, 176
 - Effect Size, Standard Deviation, Power, and Significance Level, 176
 - Calculating Sample Size for Single-Group Experiments, 177
 - Calculating Sample Size for Continuous Variables, 177
 - Calculating Sample Size for Repeat Studies, 178
 - Sample Size for Time to an Event, 179

- B ESTIMATING ANIMAL NUMBERS
 - Estimating Animal Numbers for Breeding Colonies, 181
 - Estimating Animal Numbers to Develop an Induced Mutant, 187

- C BIOGRAPHICAL SKETCHES OF AUTHORIZING COMMITTEE
 - 191

INDEX

xiii

123

150

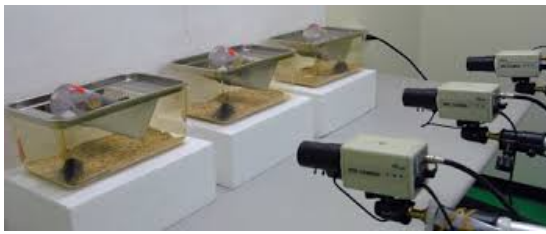
175

175

181

191

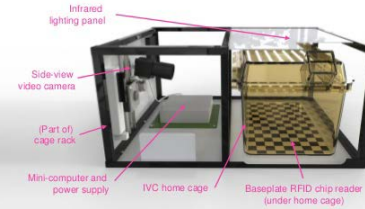
195



Features of the home cage 24 h monitoring system

BASEPLATE READER

- Automated acquisition of ambulatory activity
- Automated acquisition of subcutaneous temperature
- RFID data used to "ID tag" each animal in the video



Comportamiento inducido o provocado

Manipulación del entorno

Condición

Motivación



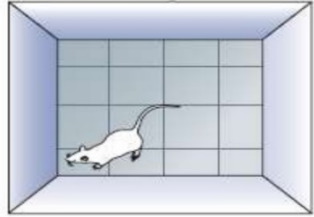
Manipulación del entorno

Contexto específico y controlado

Deben de especificarse las condiciones del contexto experimental (no sólo del aparato de prueba)

• Open-field Test

Open-field



Comportamiento exploratorio

Ansiedad



Manipulación del entorno

Estímulos motivadores de conducta

Debe realizarse y justificarse una correcta elección del estímulo motivador



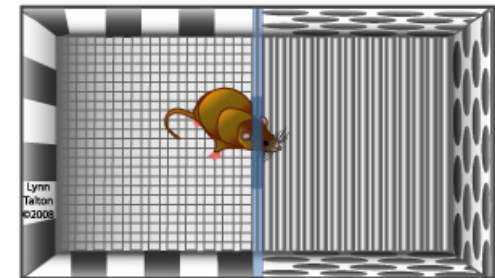
Estímulos apetitivos (atractivos o agradables): provocan un comportamiento de aproximación



Estímulos aversivos (nocivos o desagradables): provocan un comportamiento de alejamiento o evitación.

- La consideración de un estímulo particular como apetitivo o aversivo se basa en el comportamiento del organismo en diferentes contextos, NO en las características físicas del estímulo.

La misma dosis de alcohol produce preferencia de lugar en rata y aversión de lugar en ratón (Cunnigham *et al.* 1993)



- En general, los valores de los estímulos varían significativamente en función de las especies, genotipo, sexo y experiencia previa de cada animal.

Elección del estímulo
motivador

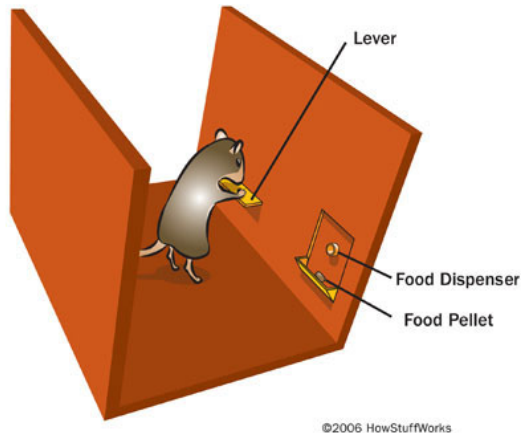
Objetivo del estudio

Debe argumentarse la razón
científica del estímulo elegido



Fear conditioning

En algunas ocasiones el objeto de estudio determina el tipo de estímulo motivador. Si por ejemplo, el interés científico está relacionado con el comportamiento de miedo (ansiedad y fobias) es inevitable la utilización de estímulos aversivos.



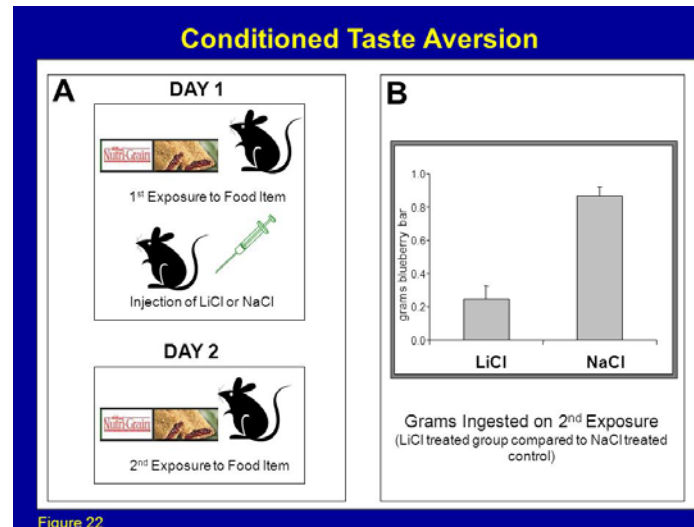
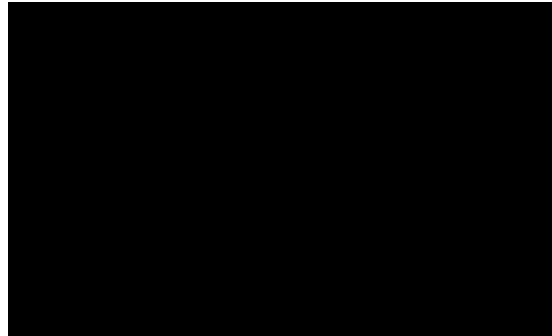
Instrumental conditioning

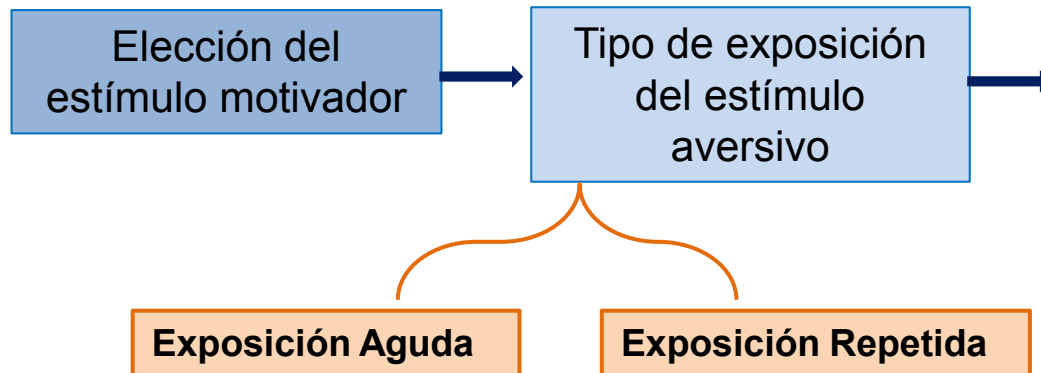
En otros casos, como en los estudios de aprendizaje y memoria, la elección del estímulo motivador puede ser mucho más flexible.

Elección del estímulo
motivador

Intensidad del estímulo
(especialmente
aversivo)

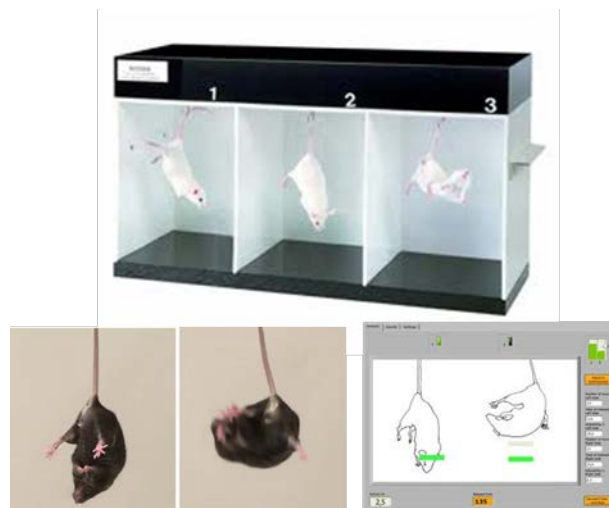
Niveles aceptables de estímulos
aversivos son aquellos que se toleran
bien y no dan lugar a comportamientos
maladaptativos.





El uso de estímulos aversivos en intensidades o duraciones que se aproximan o exceden el nivel de tolerancia del dolor o estrés del animal deberían evitarse excepto cuando haya una justificación científica sólida. En este caso, el **protocolo de supervisión y los criterios de punto final** deberían ser cuidadosos.

Un ejemplo es la diferencia en la utilización de la prueba de natación forzada para medir si un animal presenta o no un estado depresivo (exposición aguda) o su utilización para crear en el animal un estado de indefensión aprendida y obtener un modelo de depresión (exposición repetida).



Elección del
estímulo motivador

Tipo de exposición
del estímulo
apetitivo

Aunque la norma general es la utilización de estímulos apetitivos en preferencia a la utilización de estímulos aversivos, hay que tener en cuenta los requisitos adicionales que pueda haber a la utilización de estímulos apetitivos.

Exposición Aguda

Exposición Repetida

Por saciación

Por problemas de salud



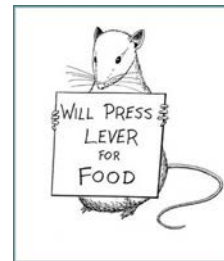
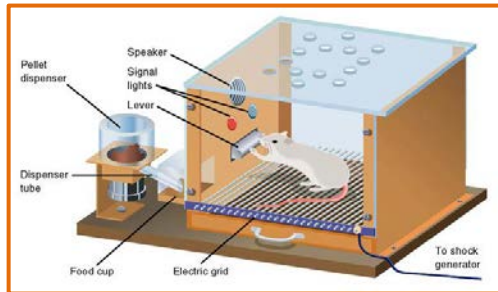
Elección del estímulo motivador

Controlabilidad o predictibilidad del estímulo por parte del animal

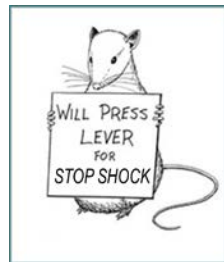
Deben describirse de forma clara y completa las características del estímulo (cantidad, concentración e intensidad, duración, etc.) y la razón científica de su utilización.

Refuerzo	Positivo	Presentación de un estímulo apetitivo
	Negativo	Retirada de un estímulo aversivo
Castigo	Positivo	Presentación de un estímulo aversivo
	Negativo	Retirada de un estímulo apetitivo

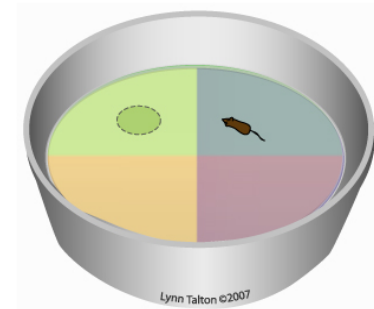
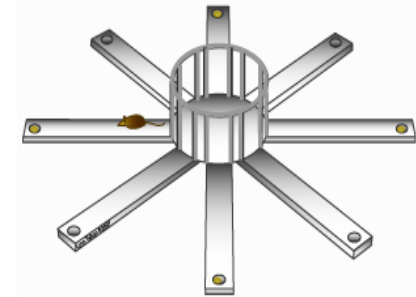
REQUIERE UNA PRIVACIÓN O RESTRICCIÓN DE COMIDA O BEBIDA



Refuerzo positivo



Refuerzo negativo



Privación o Restricción de comida y bebida

Debe utilizarse la menor privación o restricción que logre el objetivo científico.

Privación (o acceso programado)

versus

Restricción

El animal consume tanto como desea a intervalos regulares

La cantidad de alimentos o líquidos consumidos es estrictamente controlado

Problema de adaptación al patrón en tareas difíciles

Con comida y en tareas difíciles, es habitual una restricción que mantenga el animal en el 80-85 % del peso de línea base.



**A MAYOR DIFICULTAD DE LA TAREA,
MAYOR RESTRICCIÓN ES
NECESARIA**

Privación o Restricción de comida y bebida

Posibles refinamientos y alternativas, siempre que sean posibles:

- 1) Se debe utilizar el programa menos restrictivo que permita alcanzar los objetivos científicos.
- 2) Siempre que sea posible se utilizarán como refuerzo positivo alimentos o bebidas que sean lo suficientemente atractivas para el animal, de manera que pueda evitarse la privación o restricción.
- 3) La realización de pruebas de preferencia para elegir el reforzador primario puede aumentar la motivación y mejorar el resultado del entrenamiento.
- 4) Debería considerarse la posibilidad de suavizar la privación o restricción una vez el animal haya aprendido.



Privación o Restricción de comida y bebida



El desarrollo de protocolos animales que involucren el uso de restricción de comida o bebida deben:

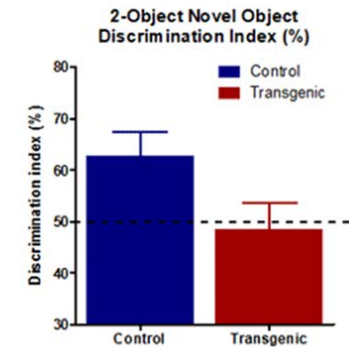
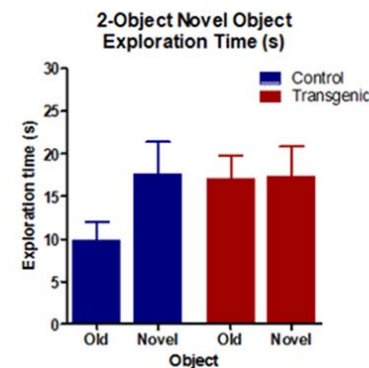
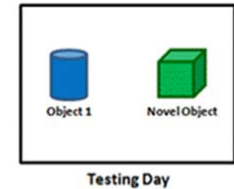
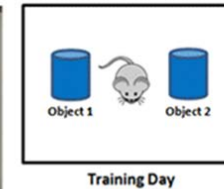
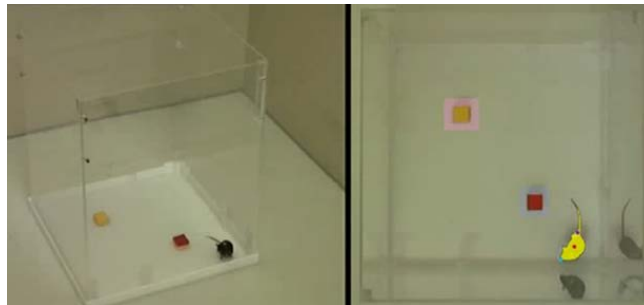
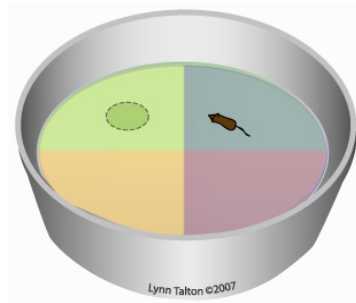
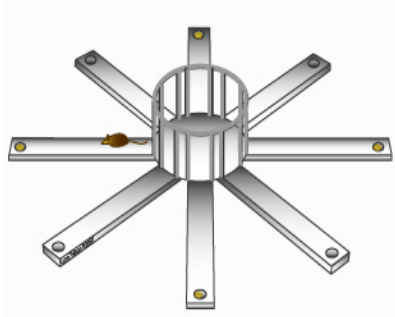
- 1) Justicar la necesidad del nivel de privación o restricción.
- 2) Determinar las consecuencias potencialmente adversas de la privación o restricción.
- 3) Establecer los métodos para evaluar la salud y el bienestar de los animales, así como las medidas correctoras y los criterios de punto final.



Condición del animal

Si no son el objetivo de estudio, las condiciones de los animales deberían conocerse antes de elegir la técnica de medida del comportamiento, no sólo por el bienestar de los animales sino también por la fiabilidad y validez de los resultados científicos.

Los problemas de salud, los déficits sensoriomotores y las respuestas emocionales atípicas que pueda presentar un animal, incidirán de manera directa en su comportamiento.

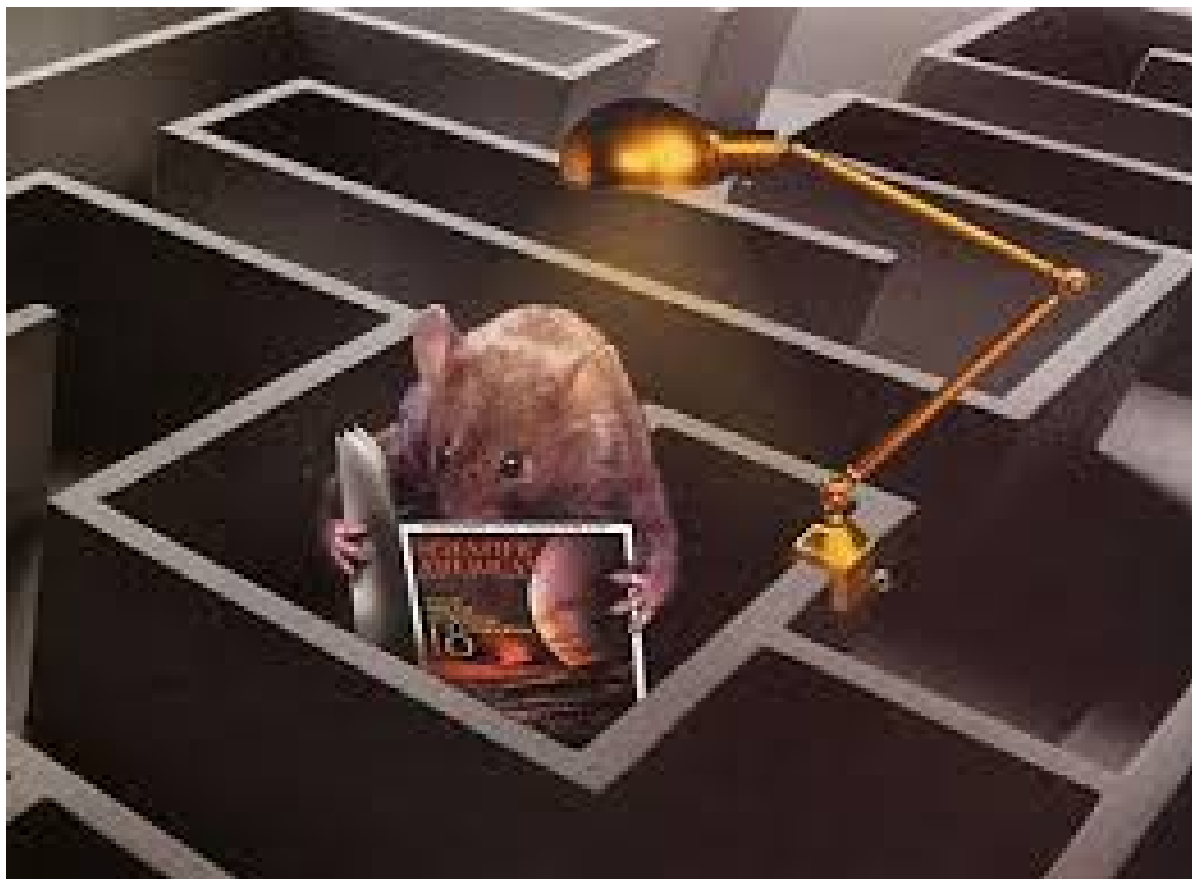


CONCLUSIONES

Un análisis de todos los parámetros relacionados con el contexto en el que se medirá el comportamiento, y con la motivación y la condición del animal para la ejecución de dicho comportamiento, permitirá una adecuada evaluación de la idoneidad del procedimiento, del grado de severidad y del establecimiento de los criterios de punto final oportunos.

Como en cualquier otro tipo de estudio, la recomendación es que cuando no se tenga información del impacto de las manipulaciones sobre el bienestar animal, los investigadores y el comité ético deberían mantener una colaboración estrecha para elaborar el procedimiento óptimo que permita alcanzar los objetivos científicos con el menor impacto posible sobre el bienestar animal.





GRACIAS POR VUESTRA ATENCIÓN

The background of the image is a close-up, high-contrast photograph of industrial machinery, likely a large-scale scientific instrument or a manufacturing component. It features various metallic parts, including a prominent circular flange with multiple bolts in the lower-left foreground. The lighting is dramatic, with strong highlights and deep shadows, creating a sense of depth and complexity. A semi-transparent dark blue horizontal band runs across the middle of the image, serving as a backdrop for the website URL.

www.ccit.ub.edu

CCiT UB

Centres Científics i Tecnològics
UNIVERSITAT DE BARCELONA