

Edición en español de:
Laboratory Animals (2011); 45: 1-13

Laboratory Animals

THE INTERNATIONAL JOURNAL OF
LABORATORY ANIMAL SCIENCE AND WELFARE

Guía para definir e implementar protocolos para la evaluación del bienestar de los animales de laboratorio: décimo primer informe del Grupo de Trabajo sobre Refinamiento AAWF/FRAME/RSPCA/UFAW

P Hawkins (Editor)¹, D B Morton (Presidente)², O Burman³, N Dennison⁴, P Honess⁵, M Jennings¹, S Lane⁶, V Middleton⁷, J V Roughan⁸, S Wells⁹ y K Westwood¹⁰

¹Research Animals Department, RSPCA, Wilberforce Way, Southwater, West Sussex RH13 9RS, Reino Unido; ²82150 Valeilles, Francia; ³Department of Biological Sciences, University of Lincoln, Riseholme Park, Lincoln LN2 2LG, Reino Unido (anteriormente Animal Welfare & Behaviour Research Group, University of Bristol, Langford House, Langford, Bristol BS40 5DU, Reino Unido); ⁴Animals (Scientific Procedures) Inspectorate, Home Office, PO Box 6779, Dundee DD1 9WW, Reino Unido; ⁵Department of Veterinary Services, University of Oxford, Parks Road, Oxford OX1 3PT, Reino Unido; ⁶Novartis Horsham Research Centre, Wimblehurst Road, Horsham, West Sussex RH12 5AB, UK; ⁷Huntingdon Research Centre, Woolley Road, Alconbury, Huntingdon, Cambridgeshire PE28 4HS, Reino Unido; ⁸Centre for Behaviour and Evolution, Institute of Neuroscience, The Medical School, Newcastle University, Framlington Place, Newcastle upon Tyne NE2 4HH, Reino Unido; ⁹Medical Research Council Harwell, Mary Lyon Centre, Harwell Science and Innovation Campus, Oxfordshire OX11 0RD, Reino Unido; ¹⁰Companion Animals Department, RSPCA, Wilberforce Way, Southwater, West Sussex RH13 9RS, Reino Unido.0

Este artículo ha sido traducido por: D^a Clara Martínez Nistal

Revisado por: Dr. José Luís Martín Barrasa

Coordinador: D. Jesús Martínez Palacio

Editado por:



Nuestro agradecimiento al Consejo de Dirección de *Laboratory Animals* y colaboración en esta traducción.

Publicación patrocinada por:



Informe del Grupo de Trabajo

Guía para definir e implementar protocolos para la evaluación del bienestar de los animales de laboratorio: décimo primer informe del Grupo de Trabajo sobre Refinamiento BVAWF/FRAME/RSPCA/UFaw (BVAWF/FRAME/RSPCA/UFaw Joint Working Group on Refinement)*

P Hawkins (Editor)¹, D B Morton (Presidente)², O Burman³, N Dennison⁴, P Honess⁵, M Jennings¹, S Lane⁶, V Middleton⁷, J V Roughan⁸, S Wells⁹ y K Westwood¹⁰

¹Research Animals Department, RSPCA, Wilberforce Way, Southwater, West Sussex RH13 9RS, Reino Unido; ²82150 Valeilles, Francia; ³Department of Biological Sciences, University of Lincoln, Riseholme Park, Lincoln LN2 2LG, Reino Unido (anteriormente Animal Welfare & Behaviour Research Group, University of Bristol, Langford House, Langford, Bristol BS40 5DU, Reino Unido); ⁴Animals (Scientific Procedures) Inspectorate, Home Office, PO Box 6779, Dundee DD1 9WW, Reino Unido; ⁵Department of Veterinary Services, University of Oxford, Parks Road, Oxford OX1 3PT, Reino Unido; ⁶Novartis Horsham Research Centre, Wimblehurst Road, Horsham, West Sussex RH12 5AB, UK; ⁷Huntingdon Research Centre, Woolley Road, Alconbury, Huntingdon, Cambridgeshire PE28 4HS, Reino Unido; ⁸Centre for Behaviour and Evolution, Institute of Neuroscience, The Medical School, Newcastle University, Framlington Place, Newcastle upon Tyne NE2 4HH, Reino Unido; ⁹Medical Research Council Harwell, Mary Lyon Centre, Harwell Science and Innovation Campus, Oxfordshire OX11 ORD, Reino Unido; ¹⁰Companion Animals Department, RSPCA, Wilberforce Way, Southwater, West Sussex RH13 9RS, Reino Unido.

*El Grupo de Trabajo Británico sobre Refinamiento (JWGR) fue establecido en 1989 por la Fundación de la Asociación Veterinaria Británica por el Bienestar Animal (British Veterinary Association Animal Welfare Foundation (BVAWF)), el Fondo por el Reemplazo de Animales en los Experimentos Médicos (Fund for the Replacement of Animals in Medical Experiments (FRAME)), la Real Sociedad para la Prevención de la Crueldad contra los Animales (Royal Society for the Prevention of Cruelty to Animals (RSPCA)) y la Federación de Universidades por el Bienestar Animal (Universities Federation for Animal Welfare (UFaw)). Su objetivo es proporcionar información actualizada sobre Refinamiento. El JWGR prepara informes sobre temas específicos, reuniendo a expertos de cada campo para definir las mejores prácticas actuales e ideales a los que aspirar. El Profesor David Morton preside el Grupo y la secretaría está a cargo del RSPCA. Véase <http://www.rspca.org.uk/sciencegroup/researchanimals/implementing3rs/refinement> (comprobado por última vez el 26 de mayo de 2010).

Autor para correspondencia: P Hawkins. Email: phawkins@rspca.org.uk

Resumen

El refinamiento de las técnicas de manejo y de los procedimientos que reduzcan el sufrimiento animal y aumenten el bienestar es un componente esencial del trato humano en la ciencia. El éxito de los refinamientos depende de la capacidad para evaluar de forma efectiva el bienestar animal, y de detectar cualquier muestra de dolor o sufrimiento lo más rápido posible, de forma que el sufrimiento pueda aliviarse. Este documento proporciona una guía práctica para establecer y operar protocolos efectivos para la evaluación del bienestar de animales utilizados en investigación y ensayos. Establece unos principios generales para una observación más objetiva de los animales, para el reconocimiento y evaluación de los indicadores del dolor o sufrimiento y para la adaptación de los mismos a proyectos individuales. Se analizan sistemas de registro de indicadores, incluyendo hojas de evaluación, y se proporcionan pautas para determinados regímenes de monitorización que tienen más probabilidad de registrar signos de sufrimiento. Esta guía está destinada a todo el personal encargado de evaluar o monitorizar el bienestar animal, incluyendo a técnicos, encargados del cuidado animal, veterinarios e investigadores. También será útil para miembros de comités de ética o cuidado en el uso de animales. Una versión más larga de este documento, con más información y otros temas que incluyen entrenamiento y formas de compartir información, está disponible en la página web de Laboratory Animals.

Palabras clave: Refinamiento, evaluación del bienestar, evaluación del dolor, hojas de evaluación, punto final humanitario

Laboratory Animals 2011; 45: 1–13. DOI: 10.1258/la.2010.010031

1. Introducción y objetivos

Reducir el sufrimiento animal mediante el refinamiento de las técnicas de manejo y de los procedimientos es un componente importante de la buena práctica científica.¹⁻⁵ También es esencial por razones humanitarias y es un requisito específico de la legislación en algunos países. Para que la reducción del sufrimiento animal se lleve a cabo con éxito, el sufrimiento debe detectarse lo antes posible, de

modo que sea posible emprender las acciones apropiadas, tales como la analgesia, la aplicación de un punto final humanitario, la revisión de las técnicas de manejo y la eutanasia del animal.

Algunas muestras de sufrimiento animal son fáciles de identificar y evaluar, y se han publicado muchos estudios sobre la evaluación del bienestar, tanto, a nivel general, como referidos a procedimientos específicos.⁶⁻¹⁰ A pesar de ello, aún se confía mucho en evaluaciones subjetivas y

opiniones individuales.¹¹

Tras discutir estos asuntos con veterinarios, personal encargado de los cuidados animales e investigadores de una serie de instalaciones en el Reino Unido, se demostró que sería de gran ayuda disponer de más consejos sobre métodos objetivos para predecir y evaluar el bienestar y sufrimiento animales.¹¹ El objeto de este documento, por tanto, es proporcionar pautas prácticas a la hora de establecer y operar protocolos efectivos para la evaluación del bienestar animal en proyectos individuales. Debería ser de utilidad para cualquier miembro del personal que requiere evaluar y monitorizar el bienestar animal, incluyendo a técnicos de animalarios, encargados del cuidado animal, veterinarios e investigadores. También será útil para miembros de comités de ética o cuidado en el uso de animales. A pesar de haber sido producido en Reino Unido, los temas y pautas tienen aplicación internacional.

Asimismo, se dispone de una versión más larga de este documento, con más información y otros temas que incluyen entrenamiento y formas de compartir información. La versión completa también se puede utilizar como ayuda para diseñar proyectos, como un documento de debate para comités de ética o cuidado en el uso de animales, y para ayudar a organismos patrocinadores o reguladores que deseen asegurarse de que los proyectos que respaldan o permiten son evaluados de forma adecuada y que el sufrimiento está minimizado

[<http://la.rsmjournals.com/cgi/content/full/la.2010.010031/DC2>].

2. Principios generales para un sistema de evaluación del bienestar efectivo

El mejor enfoque para la evaluación del bienestar en cada proyecto depende de su establecimiento y de sus prácticas de trabajo concretas, de la naturaleza de la investigación o ensayo, y de la especie y número de los animales implicados. Sin embargo, hay algunos principios fundamentales en los que deben sostenerse todos los sistemas de evaluación del bienestar. Estos están listados en la Tabla 1 y desarrollados con más detalle en el resto del documento.

2.1. Un enfoque en equipo

Un enfoque grupal a la evaluación del bienestar es altamente efectivo, ya que permite recibir aportaciones de personas con diferentes experiencias, prioridades y responsabilidades. Esto debería permitir que se diera la debida prioridad al bienestar animal, teniendo al mismo tiempo en cuenta los requisitos científicos y los recursos, que se dispone, para la monitorización animal. Quién debe participar en la evaluación del bienestar, y cómo funcionará el proceso para cada proyecto, dependerá de la naturaleza del proyecto individual, de su establecimiento y de la experiencia, pericia y recursos de los que se disponga. El resultado final puede ser un grupo fijo o asociación de personas más flexible, o el proceso de evaluación del bienestar podrá formar parte de la actuación de un comité ya existente. Es más efectivo tomar un enfoque flexible y personalizado, y considerar las habilidades, conocimientos, experiencia, motivación y autoridad requeridos antes de

Tabla 1 Requisitos generales para una evaluación efectiva del bienestar

Un enfoque en equipo

Un enfoque en equipo es la forma más efectiva de asegurar la congruencia y efectividad.¹¹ El equipo deberá incluir personas con una serie de responsabilidades y experiencia relevantes que estén preparadas para trabajar juntas de forma efectiva.⁴

Indicadores de bienestar adecuados

El estado de bienestar de un animal no puede evaluarse de manera directa, pero puede inferirse mediante la monitorización de parámetros fisiológicos y de comportamiento adecuados, que pueden usarse como indicadores de bienestar. Es crítico definir y monitorizar el tipo y número correcto de indicadores: si hay demasiados, el sistema tardará mucho en implementarse, si hay demasiados pocos será inadecuado y confuso.

Un buen conocimiento de bienestar y animal "normal"

Los evaluadores efectivos, del bienestar deberán ser capaces de reconocer un animal "normal", con un adecuado bienestar, con el objetivo de detectar signos precoces de efectos adversos. Sin embargo, las definiciones tanto de "bienestar óptimo" como de "normal" deberán considerarse cuidadosamente. Esto se explica en la sección 2.2.

Identificación total de todos los efectos adversos potenciales de todo tipo de fuentes

Hay muchas causas potenciales de efectos adversos durante la vida de un animal, por ejemplo, no solo procedimientos experimentales sino también otros factores como la cría, manipulación y transporte. Una evaluación del bienestar efectiva tendrá en cuenta todas las causas de daño potencial y todos los efectos adversos asociados con ellas.

Equivalencia para todas las especies

De forma ideal, los protocolos de evaluación del bienestar deberían prestar la misma atención a todas las especies, sin tener en cuenta el número de animales empleados o las percepciones acerca de su capacidad cognitiva y su capacidad de sufrimiento.

Equivalencia entre observadores

Es esencial minimizar las variaciones entre las observaciones de los evaluadores. Las diferencias entre las capacidades de observación y las interpretaciones subjetivas pueden reducirse mediante formación efectiva y trabajo en equipo, y también asegurándose de que las observaciones se describen de forma adecuada y se registran de forma significativa.

Sistemas de registro adecuados

Existen una serie de sistemas diferentes para registrar los datos de evaluación del bienestar, cada uno de los cuales presenta ventajas e inconvenientes particulares que los hacen adecuados para su uso en diferentes situaciones. Los datos deberían registrarse mediante el uso de un lenguaje y formato congruente, empleando el sistema de registro más adecuado para cada institución, especie, proyecto y grupo de personal.

identificar a los miembros del equipo que pueden aportarlos. Sea cual sea la estructura del equipo, las competencias que son imprescindibles al establecerlo están indicadas en la Tabla 2.

Es importante promover una buena comunicación, cohesión de equipo y relaciones laborales constructivas, tanto dentro del equipo como entre el equipo y otros grupos o comités en el centro, tales como comités de ética en el uso de animales o grupos de las tres Rs. La información sobre los niveles de daño proporcionados por el equipo de evaluación del bienestar será útil para desarrollar e implementar las mejoras, así como para informar de las conclusiones sobre daños/beneficios a las que puedan haber llegado los comités de ética. La versión online de este informe proporciona mayores explicaciones sobre la interacción y solapamiento entre el equipo de evaluación del bienestar y otros organismos dentro de cada estudio.

Debería desarrollarse un protocolo de evaluación del bienestar para cada proyecto específico. Su elaboración debería comenzar en una etapa temprana de la planificación del proyecto, antes de presentarlo ante autoridades reguladoras o comités de análisis, con el objetivo de que la evaluación del bienestar se tenga en cuenta para el diseño experimental.

2.2. Definición de bienestar

Antes de nada debería establecerse un estándar básico de bienestar, que actúe como punto de referencia para la especie (y cepa, cuando sea relevante) que se vaya a utilizar en el estudio. Este estándar puede aplicarse de modo general para una especie o cepa en particular. No obstante, no siempre puede aplicarse de forma directa este patrón basal,

Tabla 2 Destrezas de un equipo competente de evaluación del bienestar

El equipo deberá incluir miembros que:

Puedan reconocer el comportamiento de un animal "normal" y entender por comportamiento "normal" el de la especie y cepa en el entorno del laboratorio

Conozcan las disciplinas científicas relacionadas con el proyecto

Sean capaces de reconocer todos los problemas potenciales de bienestar (tanto dentro del proyecto como a lo largo de la vida de los animales)

Puedan reconocer e identificar animales que muestren efectos adversos como resultado de procedimientos científicos

Puedan identificar un animal que no sea "normal", pero donde esta desviación de la normalidad no sea un efecto adverso que resulte directamente de procedimientos científicos*

Puedan evaluar e interpretar indicadores de bienestar

Sean capaces de aconsejar sobre cómo mejorar (o evitar) los efectos adversos

Tengan conocimientos comparativos entre diferentes especies e instituciones o centros

Sean capaces de tratar problemas de organización y recursos, tales como de personal, bien de forma directa o mediante la comunicación con la administración

Tengan la responsabilidad de obtener información actualizada sobre la evaluación del bienestar

A veces será necesario el consejo de personas expertas en:

Estadística: en relación con asegurar la equivalencia entre observadores, comparar la severidad esperada con la observada, etc.

Etología: para una mejor comprensión del comportamiento animal

Ciencia del bienestar animal: para interpretar cómo el comportamiento, fisiología, psicología, inmunología, neuroendocrinología, etc. reflejan el bienestar y cómo evaluar estos aspectos

Establecer estrategias para mejorar y evaluar las mejoras

*Dos ejemplos son los animales en estudios a largo plazo que se mantienen en las instalaciones, y la aparición espontánea de hidrocefalia en ratones C57BL/6

en particular en los casos en los que el comportamiento se utiliza como un indicador de bienestar. Por ejemplo, los ratones genéticamente modificados (GM) con anomalías vestibulares pasan mucho tiempo haciendo "circling" por la jaula. Este es un comportamiento normal para estos animales, pero no es necesariamente deseable desde un punto de vista del bienestar.¹

De forma similar, un alojamiento sin enriquecimiento puede ser causa de comportamiento estereotípico,¹² lo que es normal en tales entornos, pero puede indicar un serio problema de bienestar. En ocasiones se utiliza el término "natural" en lugar de "normal", pero esto no es más descriptivo: lo que es comportamiento normal para un animal de laboratorio no es necesariamente natural.⁵

Un punto de referencia más útil para el protocolo de evaluación del bienestar es definir un nivel de bienestar "ideal" hipotético. Esto puede definirse como: *el estado en el que se encuentran los animales cuando sus necesidades nutricionales, ambientales, mentales, de salud y de comportamiento están satisfechas.*¹³ Existen tres componentes clave para este ideal, recogidos en la Tabla 3.

Normalmente no hay necesidad de medir todos estos parámetros para establecer los niveles normales. Puede asumirse que el estado ideal existe si el equipo está convencido de que las condiciones de alojamiento y los cuidados están acordes a las buenas prácticas de manejo, los animales están sanos, se comportan en base a los tiempos previstos y están completamente habituados a sus rutinas de alojamiento y manejo.

Existen muchas causas potenciales de sufrimiento durante las vidas de los animales que pueden tener un impacto en la

Tabla 3 Componentes de un estado de bienestar "ideal" y ejemplos de indicadores asociados con él

Componente	Características	Ejemplos de indicadores
(i) Estado físico	Buen nivel fisiológico, sin discapacidades físicas que causen malestar o dolor, o que tengan un impacto en funciones físicas que puedan causar sufrimiento	Indicadores relacionados con la condición física observable del animal, como peso corporal, estado del pelaje, cojera o excesiva atención al lugar de una herida quirúrgica
(ii) Estado fisiológico/bioquímico	Niveles de estrés y sufrimiento que no exceden los que tendrían lugar durante la interacción social normal, por ejemplo. Si se midieran los parámetros tales como ritmo cardíaco o presión sanguínea, no se esperaría que indicasen estrés significativo	Parámetros fisiológicos tales como ritmo cardíaco, ritmo respiratorio, niveles de hormonas de estrés tales como corticosteroides
(iii) Estado psicológico	El animal presenta un rango "apropiado" de comportamientos, de acuerdo con lo que se conoce de la especie y cepa	Cambios en el comportamiento tales como un aumento de la agresividad hacia los compañeros de cubeta, retirada y cambios en el uso de los elementos de la cubeta

evaluación del bienestar presente o futuro. Las causas de esta desviación del estado ideal de bienestar pueden incluir una temprana separación de la madre, transporte, enjaulado, alojamiento inapropiado, cuidado sanitario inapropiado, procedimientos inadecuados y sus secuelas (esperadas e inesperadas), procedimientos de manejo (tales como limpieza e identificación) y eutanasia o liberación.^{2,14-16} Estos acontecimientos pueden interactuar unos con otros. Por ejemplo, el estrés debido a una separación temprana de la madre puede afectar a la nociepción en ratas.¹⁷

Teniendo en cuenta todo esto y dando por hecho que el estándar de base es adecuado, cualquier desviación de este estado ideal podría indicar un problema de bienestar y debería investigarse como tal. Nótese, no obstante, que algunos parámetros fisiológicos pueden alterarse en asociación con estímulos positivos, como el juego, así como con estímulos negativos. Además, muchas especies que suelen usarse, en especial los roedores, no siempre presentan signos de sufrimiento en el comportamiento que puedan ser observados con facilidad por observadores humanos. Estos problemas pueden superarse mediante la rigurosa selección e interpretación de los indicadores de bienestar.

2.3. Selección de indicadores de bienestar apropiados

La clave para el éxito de la evaluación del bienestar es la selección de indicadores de bienestar que:

- Sean reconocibles de forma rápida y fiable
- Sean efectivos a la hora de proporcionar buenas medidas del bienestar
- Sean relevantes para el proyecto y la especie
- Sean de aplicación práctica y no perturben al animal
- Tengan en cuenta el diseño experimental
- Permitan una medición, interpretación y análisis congruentes.^{4,18}

Es preferible utilizar una combinación de indicadores de cada una de las categorías listadas en la Tabla 3 para evitar

dificultades con la interpretación y para proporcionar una idea más detallada y completa del bienestar del animal.^{11,19}

2.3.1. Indicadores generales

Puede elaborarse una lista de indicadores de bienestar simples y objetivos, tales como peso y condición corporal (estado físico en la Tabla 3), temperatura corporal medida (estado fisiológico) y consumo de agua y alimento (esto puede entrar en cualquiera de las otras tres categorías). Estos indicadores pueden medirse de forma directa y objetiva, proporcionando claros indicadores de que el bienestar animal pueda estar comprometido. También son útiles para definir e implementar los criterios de punto final humanitario.¹¹

2.3.2. Indicadores específicos del proyecto

El siguiente paso es predecir los posibles efectos adversos, de forma que se puede crear una lista de indicadores a la medida del estudio. Por ejemplo, después de una cirugía de vasectomía, sería de esperar que los ratones experimentarían un grado de dolor asociado con el lugar de la herida, como efecto adverso. Algunos indicadores de este efecto adverso podrían incluir pérdida de peso corporal (un indicador general) e indicadores de comportamiento específicos del proyecto tales como levantar una pata trasera o presionar el abdomen contra el suelo de la jaula.²⁰ Estos comportamientos pueden usarse como indicadores para la evaluación del bienestar posterior a la vasectomía. La Tabla 4 lista fuentes de información y pautas que pueden usarse para predecir efectos adversos.

La lista de efectos adversos potenciales puede incluir elementos tales como molestias o dolor en determinadas partes del cuerpo, náusea u otros efectos toxicológicos, ansiedad, capacidades físicas reducidas, etc. El siguiente paso en el proceso es considerar cuáles pueden ser los indicadores fisiológicos o de comportamiento para estos efectos adversos. Algunos indicadores de uso común, que están asociados con diversos efectos adversos, son: curvar el lomo, retorcerse y/o encoger el costado en roedores, flaccidez muscular en torno al ojo en aves, cambio de color de la piel en peces o renuencia a moverse en muchas especies. La lista de indicadores para todas las especies se expande constantemente; una incorporación reciente es el uso de expresiones faciales en el ratón.²² Las interacciones con el entorno, tales como morder materiales para nidos, también pueden proporcionar indicadores en extremo útiles, lo que constituye otra razón para proporcionar un entorno estructurado.¹⁹

El Apéndice

[<http://la.rsmjournals.com/cgi/content/full/la.2010.010031/DC1>] lista fuentes para más ejemplos de indicadores de bienestar. Para un estudio más a fondo de cómo estimar la probabilidad de dolor y sufrimiento, sus consecuencias y niveles de riesgo asociados, véase National Health and Medical Research Council (2008)⁴ y para práctica de todo lo anterior véase *Assessing the Health and Welfare of Laboratory Animals*, <http://ahwla.org.uk/> (consultado por última vez el 26 de mayo de 2010). La Tabla 5 presenta un enfoque para identificar los indicadores y considerar cómo cada indicador podría monitorizarse y evaluarse de mejor manera.

Tabla 4 Fuentes de información y pautas para predecir los efectos adversos potenciales

Información proporcionada por el personal encargado de los cuidados (y criadores, si es posible y aplicable) sobre el origen, transporte, métodos de identificación, sistemas de cría, etc. y sus implicaciones sobre el bienestar

Análisis de daños-beneficios que ya se hayan llevado a cabo

Experiencia pasada, si ya se han llevado a cabo otros estudios similares usando la misma especie o cepa

Resultados de estudios *in vitro* e *in silico*, como por ejemplo la relación cuantitativa estructura-actividad (QSAR) donde se relaciona la estructura química con la actividad biológica

Búsquedas en la literatura de publicaciones de estudios similares. Los artículos que incluyan efectos adversos pueden ser extremadamente valiosos

En el entorno de la investigación por encargo, la información obtenida al probarse otros compuestos (por ejemplo para los agroquímicos, los signos pueden ser comparables entre diferentes compuestos), estructura química o información proporcionada con los compuestos que se están probando

Información de los estudios piloto, por ejemplo, datos sobre la absorción

En investigación farmacéutica y evaluación del desarrollo y la seguridad, información sobre lugares "diana" y la acción farmacológica esperada, no solo del compuesto original, sino también de cualquier metabolito que pueda originarse*

Algunos modelos de enfermedades animales, por ejemplo que usen la misma especie que la especie del estudio, signos clínicos de la enfermedad en casos clínicos

Algunos modelos de enfermedad humana, los signos clínicos y síntomas de la enfermedad en humanos pueden proporcionar indicios. Esto debería considerarse cuidadosamente, ya que los signos clínicos podrían ser diferentes en animales; los proyectos de investigación normalmente solo reflejan algunos aspectos de una condición²¹

Contactar con otros investigadores que empleen los mismos o similares modelos, si es posible haciendo uso de grupos de debate online tales como los recursos de Compred Published, incluyendo los referidos en el Apéndice

*Las bases informáticas comerciales de datos (como DEREK[®]) son recursos excelentes para acceder a información sobre la estructura química y la actividad de compuestos originales y sus metabolitos. También pueden proporcionar muy buenas actividades de predicción para compuestos inofensivos, aunque estos sistemas de predicción no sean perfectos

La evaluación del bienestar es un proceso en desarrollo, y es muy probable que la lista de indicadores necesite revisarse y actualizarse a medida que el trabajo progresa, de acuerdo con la validez de cada indicador y la información que pueda proporcionar. El objetivo es incluir el menor número de parámetros necesario para detectar rápidamente y de forma efectiva los efectos adversos, y no desperdiciar tiempo reuniendo datos que no añaden ningún valor. Podría reducirse el número de indicadores usando los llamados "indicadores iceberg", que resumen otras áreas del bienestar y son fáciles de comprender.²⁴ Uno de estos indicadores es la ausencia de acicalado después de la cirugía, lo que podría indicar una incapacidad para coordinar movimientos de acicalado, dolor postoperatorio o, en caso de ser poco después de la cirugía, los efectos secundarios de agentes anestésicos o analgésicos.

Los efectos adversos y sus indicadores de comportamiento pueden a veces ser completamente impredecibles, en especial cuando se están probando nuevos compuestos o en proyectos de mutagénesis. En estos casos, habrá algunas lagunas de conocimiento y la evaluación del bienestar se hace a ciegas, por lo que se recomienda incluir tantos indicadores potenciales como sea posible en la evaluación inicial. También puede que sea posible recabar más información consultando a expertos externos y/o llevando a cabo un pequeño estudio piloto para ayudar a definir indicadores apropiados (véase sección 2.3.4.). Es más probable que esto sea necesario al usar nuevas especies o nuevas técnicas.

2.3.3. Puntos de intervención

Tabla 5 Identificación de indicadores para cada efecto adverso

¿Cuáles pueden ser los indicadores observables y medibles en una animal que esté experimentando este efecto? ¿Cómo deberían describirse?
¿Con qué frecuencia debería monitorizarse a los animales, y en qué momento, para asegurar que se tendrán en cuenta los indicadores?
¿Cómo se evaluarán los indicadores y qué método es preferible y más viable?
¿La medición es objetiva?
¿Se observa y marca como presente o ausente?
¿Se asigna una puntuación numérica?
¿Serán los beneficios de la monitorización mayores que cualquier molestia que pueda causarse? ¿Podría reducirse la molestia incluyendo una evaluación del bienestar cuando los animales estarían molestos de todas formas por ejemplo en una comprobación del peso corporal?
¿Se utilizarán técnicas invasivas, tales como las muestras de sangre o la implantación de dispositivos telemétricos para monitorización?*
¿Afectará de forma negativa la medición de los indicadores a los resultados científicos? O a la inversa, ¿podrían usarse los resultados científicos recogidos en el estudio, para evaluar el bienestar?
¿Pueden utilizarse indicadores ambientales tales como, por ejemplo, la interacción con objetos diseñados para trepar o construir nidos?
*El uso de procedimientos invasivos para la monitorización del bienestar o la implementación de criterios de punto final humanitarios requiere una cuidadosa consideración respecto a la evaluación de los daños-beneficios, así como consultar con veterinarios y autoridades competentes en materia de experimentación animal (los últimos con respecto a las implicaciones legales). También podrá afectar a la evaluación de daños-beneficios de la totalidad del proyecto ²³

Es esencial por motivos de bienestar animal, ética, y a menudo legales que se establezcan claramente puntos de intervención para cada proyecto. En el momento de debatir los indicadores, deberían definirse intervenciones adecuadas en caso de la aparición de signos clave, o de alcanzar un determinado nivel. Por ejemplo, la terapia de fluidos podría iniciarse tan pronto como aparezcan signos de deshidratación, o una intervención para la pérdida del 10 % de peso corporal en ratas con una condición degenerativa podría ser proporcionar una mezcla húmeda a nivel del suelo. En esta etapa también deberían definirse los criterios de punto final humanitario, alcanzados los cuales el animal se retirará temporal o permanentemente del estudio.

Deberían establecerse umbrales que permitan el mínimo de sufrimiento animal a la vez que contribuyan al objetivo del estudio, por lo que cualquier intervención y su temporización tendrán que acordarse con el investigador y persona encargada de controlarlos, en una etapa inicial. Podrían esperarse algunos signos clínicos como parte del modelo. Uno de estos casos serían las extremidades pálidas en animales utilizados para estudiar una enfermedad cardiovascular. El sistema de evaluación del bienestar debería incluir pautas claras de los efectos que deben esperarse como parte del modelo, y cuál es el límite para cada uno de ellos.

2.3.4. Estudios piloto

Los estudios piloto que utilicen un pequeño número de animales pueden proporcionar pautas útiles sobre indicadores de bienestar en los casos en los que estos son difíciles de predecir, por ejemplo, para probar nuevos compuestos o para diseños experimentales recientemente desarrollados. Los resultados de los estudios piloto no solo pueden proporcionar los indicadores para el proyecto final, sino también ayudar como guía para las mejoras,

incluyendo puntos de intervención y criterios de punto final. Los primeros animales en un estudio piloto deberían ser monitorizados con extremo cuidado, tomando muestras frecuentes y una amplia gama de indicadores, con el fin de recoger tanta información como sea posible sobre los efectos adversos potenciales y su progresión. En el caso de estudios piloto donde los efectos sean altamente impredecibles o potencialmente severos, es recomendable la presencia y asistencia en la monitorización de un veterinario.

2.3.5. Indicadores de bienestar positivo

La evaluación del bienestar generalmente se centra en el bienestar negativo más que en el positivo. Sin embargo, también es deseable mejorar la calidad de vida del animal así como minimizar su sufrimiento, por lo que debería considerarse la utilidad de definir signos del bienestar positivo y la incorporación de los mismos al sistema de evaluación del bienestar. Una lista general de ejemplos de comportamiento que deben tenerse en cuenta se presenta en la Tabla 6.

Los signos de bienestar positivo variarán de modo considerable dependiendo de la especie, cepa, tipo de vida y temperamento individual de los animales. Indicadores como estos necesitan, por tanto, interpretarse con cuidado, sirviéndose de la literatura sobre comportamiento animal y del consejo de los etólogos. Por ejemplo, algunas variedades de roedores son pasivas o tienen niveles bajos de actividad, pero esto no tiene por qué estar relacionado con el bienestar individual. Algunos comportamientos, tales como perseguirse la cola en las ratas, pueden confundirse con juegos, cuando el comportamiento es en realidad una actividad auto dirigida en respuesta al aislamiento social.²⁹ El conocimiento sobre signos fiables de bienestar positivo es limitado para muchas especies en el momento en que se escribe este documento. Sin embargo es una rama en desarrollo, de la ciencia del bienestar animal y es importante seguir revisando sus avances. Para más información, véase Boissy et al.²⁷ Kirkwood et al.³⁰ Wemelsfelder,³¹ y Yeates y Main.³²

2.4. Sistemas de registro de indicadores de bienestar animal

Existen diferentes sistemas de uso común para registrar indicadores de bienestar. Los hemos clasificado como (i) registros relativamente desestructurados, con un pequeño número de signos claves y dependientes de la descripción escrita de los efectos adversos (texto libre), o (ii) hojas de evaluación del bienestar animal más organizadas, con listas de indicadores predeterminadas pero flexibles y el mínimo posible de texto libre. Las últimas pueden ser hojas numéricas o binarias. Las numéricas tienen como objetivo cuantificar la severidad de los efectos adversos; los sistemas binarios simplemente registran si los efectos adversos están presentes o no.

Los registros relativamente simples con texto libre podrían ser más apropiados en algunas circunstancias, por ejemplo durante los estudios piloto, donde se requiere un enfoque flexible y exploratorio. También se emplean en casos en los que los efectos adversos son muy impredecibles y se monitoriza a los animales con gran atención. En general, sin

embargo, la congruencia y objetividad se alcanzan más fácilmente usando hojas organizadas y reduciendo al mínimo el texto libre (Tabla 7). Es de vital importancia lograr que el lenguaje utilizado para describir la apariencia y comportamiento de los animales concuerde, tanto dentro del equipo de evaluación del bienestar como entre diferentes centros. (Se está desarrollando un proyecto interactivo dedicado a estandarizar el lenguaje que se usa para describir a los ratones.

Véase www.mousewelfareterms.org (consultado por última vez el 26 de mayo de 2010)).

Tabla 6 Ejemplos de comportamientos que pueden indicar estados de bienestar positivos

Buenos cuidados, incluyendo acicalado y comportamientos de "confort"
Niveles normales de actividad y empleo del tiempo, incluyendo patrones de sueño ²⁵
Búsqueda de interacción con humanos
Curiosidad e interés por la exploración
Interacción social apropiada con otros miembros de la especie, incluyendo acicalarse unos a otros.
Apareamiento
Comportamiento "anticipatorio" ²⁶
Uso de elementos de la cubeta, en especial para las conductas de "lujo"
Interés por la comida
Juegos ^{27, 28}
Vocalización asociada con el bienestar positivo
Aprendizaje y funciones cognitivas normales

En el caso de las hojas de evaluación numéricas, se evalúa y se da una puntuación a una serie de signos clínicos, indicadores físicos y parámetros de comportamiento de acuerdo con su severidad aparente. Por ejemplo, no afectado marcaría 0, leve desviación de la normalidad podría marcarse como 1, desviación moderada de la normalidad 2, y desviación significativa, 3. A menudo las puntuaciones se suman y los resultados se utilizan para determinar si se requiere una acción (como analgesia) de acuerdo con una clave predeterminada adjunta a la hoja (Figura 1). La puntuación numérica también puede ser la base de una evaluación del bienestar más compleja, por ejemplo a la hora de evaluar el sufrimiento acumulativo.³³

Sin embargo, las puntuaciones numéricas deben interpretarse con cuidado. La suma simple puede estar justificada en algunos casos pero no en otros, y algunos parámetros podrían necesitar ponderarse. En el ejemplo que se muestra en la Figura 1, la puntuación de 2 por pelaje sin lustrar y 2 por aislamiento de los compañeros de cubeta no es "equivalente" a 4 por intestino inflamado; un animal con una puntuación de 4 no sufre el doble que uno con la puntuación 2. También es concebible que un animal pueda estar experimentando sufrimiento intenso y tener una puntuación que no requiera acción, aunque la empatía y el sentido común de parte del evaluador deberían proteger al animal del sufrimiento que se pueda evitar en estos casos.

Por el contrario, el sistema binario registra "sí" (presente) o "no" (ausente), dependiendo de si se aprecia o no el comportamiento o efecto, sin describir su intensidad. Parámetros esenciales tales como el peso corporal también suelen medirse y registrarse. El sistema binario suele

considerarse más objetivo que el sistema numérico, ya que no se requiere juzgar la intensidad. Sin embargo, no debería darse por hecho que existe objetividad; deberán seguir haciéndose comprobaciones de que el sistema se usa de forma congruente.

Tanto el sistema numérico como el binario tienen ventajas e inconvenientes y serán adecuados en contextos distintos (Tabla 8)

Tabla 7 Ventajas de las hojas estructuradas para la evaluación del bienestar

Los signos se registran de forma congruente, utilizando términos definidos y acordados, por lo que la evaluación del sufrimiento es más objetiva
El sistema es flexible y puede hacerse específico para cada especie, cepa y modelo
Personas con experiencia podrán usar los resultados para explicar a otras menos experimentadas cuándo un animal "no está bien"
El sistema puede establecerse de modo que un único signo o una combinación de ellos pueda usarse para indicar la severidad media de un procedimiento
Puede determinarse la efectividad de cualquier terapia que pretenda aliviar los efectos adversos
Pueden indicarse procedimientos, que probablemente afectarán al bienestar, para que puedan acordarse con anterioridad intervenciones en respuesta a los efectos adversos, y pueda emprenderse una acción lo antes posible
El impacto de los procedimientos científicos en animales puede medirse mejor y puede compararse la efectividad de las estrategias de refinamiento
Sigue contándose con cuadros de texto libre para anotar signos inesperados, así como molestias causadas por visitas de personas con la que los animales no están familiarizados, fallos en el sistema de iluminación o ruido, factores que pueden afectar al bienestar y a los resultados experimentales ¹⁴

Se elija el sistema de registro que se elija, deberá adaptarse para estudios específicos, revisado con regularidad y modificado con el uso si es necesario. Podría ocurrir, que los indicadores esperados aparezcan de forma infrecuente, en cuyo caso podrían eliminarse, o si son vitales para la evaluación, deberá alterarse la frecuencia de las pruebas para asegurar que se tienen en cuenta. Por el contrario, podrían producirse efectos adversos inesperados (como se muestra en los espacios para texto libre) y deberán por tanto añadirse indicadores, en las hojas, para los mismos.

Como advertencia final, no debería darse por hecho que ningún sistema de evaluación del bienestar sea infalible. Siempre existe la posibilidad de que se produzcan efectos adversos imprevistos, o de que un evaluador particularmente empático detecte signos clínicos muy sutiles y antes no identificados. Es necesario hallar un equilibrio entre la objetividad de la evaluación del bienestar por un lado, y la confianza en la empatía individual por el otro.

2.5. Temporización, duración y frecuencia de la evaluación

Una vez diseñado el sistema de registro, puede establecerse un protocolo de monitorización que incluya con qué frecuencia evaluar a los animales, en qué punto de la fase de su actividad, y cuánto tiempo dedicar a la evaluación. Los detalles específicos para la mejora dependerán de los factores que se presentan a continuación. Evidentemente, cuantos más animales se necesite evaluar, más tiempo se requerirá. Es esencial contar con los recursos adecuados para asegurar la monitorización efectiva.

2.5.1. Especie y variedad

Figura 1 Ejemplo tomado de una hoja de evaluación numérica, para ratas empleada en un estudio sobre enfermedad inflamatoria intestinal (NB no es una hoja completa)

Parámetro (véase Tabla 3)	Identificación del animal:	Puntuación	Fecha/hora	Fecha/hora
Peso corporal	Normal o pérdida de peso de hasta el 5%	0		
	Pérdida del 5-10%	1		
	Pérdida superior al 10%	2		
Estado físico	Normal	0		
	Ausencia general de acicalado	1		
	Falta de lustre del pelaje y/o secreción nasal u ocular	2		
	Prueba del "pellizco cutáneo" retrasada, arrugas en la piel	4		
	Heces normales o moderadamente blandas	0		
	Diarrea	1		
	Intestino sin tono muscular y blando, sin heces	2		
	Intestino duro, inflamado	4		
	Estado fisiológico	Respiración normal	0	
Respiración levemente dificultosa		1		
Respiración notablemente dificultosa		3		
Estado psicológico	Comportamiento normal	0		
	Levemente sometido/dominado	1		
	Cambio moderado en el comportamiento con/sin los compañeros de jaula	2		
	Reacción violenta/vocalización	6		
Otras observaciones				
TOTAL				

Intervenciones:

- 0 Normal
- 1 ó 2 Monitorizar más cuidadosamente
- 3-5 Monitorizar atentamente, considerar analgesia, notificar al investigador
- 6-10 Probabilidad de sufrimiento significativo, proporcionar alivio adecuado, observar con frecuencia, considerar eutanasia

Figura 2 Aspecto de la cubeta en machos de ratón HsdHan:NMRI con y sin dolor posterior a laparotomía. Los ratones de la fila superior han construido nidos bien estructurados y defecan en un área separada (círculos), como se espera de esta cepa. Los ratones de la fila inferior están experimentando dolor posterior a la laparotomía de leve a moderado; la superficie de la cubeta está organizada, sin un área separada para defecar y se observan dos lugares de descanso similares a un nido (flechas). Reproducción con permiso de Arras *et al.*¹⁹

De forma ideal, todas las especies deberían considerarse con la misma capacidad de sufrimiento y deberían recibir la misma consideración. Sin embargo, existen algunos problemas prácticos reales que influyen sobre el nivel de complejidad de la evaluación y el tiempo que lleva su realización (y análisis). Hay disponibles más medidas de bienestar para unas especies que para otras, lo que puede influir en el tiempo que se requiere para desarrollar la evaluación del bienestar. Algunas especies presentan comportamientos que son comparativamente fáciles de detectar e interpretar para los humanos. Un primate deprimido muestra una postura característica que es fácil de reconocer y con la que es fácil empatizar para la mayoría de los observadores.³⁴ Los signos de un déficit en el bienestar pueden ser más difíciles de reconocer y llevar más tiempo en especies tales como roedores y no mamíferos; también es probable que haya diferencias entre cepas, en comportamiento normal y respuesta al dolor, sufrimiento o angustia.

Estar al tanto de todos los problemas anteriores relacionados con dificultades reales de la evaluación de

diferentes especies y variedades, y consultar con etólogos y otros expertos relevantes para resolverlos, puede resultar de ayuda para facilitar una consideración ecuaníme para todos los animales.³⁵

En lo que respecta a animales modificados genéticamente (AMG), muchas modificaciones genéticas han dado lugar a características predecibles e impredecibles que afectan al bienestar, pero que no siempre serán detectadas usando protocolos fenotípicos estándar³⁶. El bienestar de estos animales debería evaluarse con cuidado durante un periodo prolongado, comenzando en la fase neonatal, de modo que cualquier efecto adverso pueda ser identificado y puedan utilizarse indicadores apropiados para la evaluación rutinaria del bienestar de la cepa. También es una buena práctica ampliar esta inspección a modificaciones genéticas que se estén instaurando por primera vez, en cepas con diferente origen o que se estén criando para homocigosis (esto es especialmente relevante en ratones).

2.5.2. El diseño experimental

La naturaleza de los procedimientos también afectará a la

temporización, duración y frecuencia de las observaciones. Los procedimientos de un elevado nivel de severidad requieren una monitorización más frecuente, así como los protocolos donde se esperan una rápida manifestación de los efectos adversos. La escala temporal de los efectos adversos puede ser más predecible si se ha evaluado científicamente (por ejemplo la prueba de potencia de la vacuna contra *Bordetella pertussis*³⁷) o si existe experiencia previa respecto a una técnica en particular.

Tabla 8 Comparación de los sistemas de observación numérico y binario

Sistema numérico	Sistema binario
Ventajas	Ventajas
Congruente, siempre que las pautas estén claras y las opciones de puntuación sean limitadas	Evaluación potencialmente más objetiva: simplemente "presente" o "ausente"
Se puede recopilar una cantidad considerable de datos, que pueden analizarse estadísticamente	Lleva menos tiempo, ya que no se requiere juzgar los datos numéricos
Desventajas	Desventajas
Subjetividad a la hora de asignar puntuaciones	Menor cantidad de datos recogida
Empieza más tiempo	Necesidad de establecer el límite para marcar como presente, lo que requiere tiempo y puede ser subjetivo
Potencialmente no lo suficientemente sensible como para detectar cambios sutiles	No puede asignar puntos claros de intervención en base a una puntuación numérica, aunque la presencia de algunos signos clínicos puede denotar límites
La puntuación acumulada puede sobre o subestimar la severidad. Algunos cambios pueden requerir ser ponderados como más indicativos que otros, y así, deberían considerarse la relevancia de algunos criterios	No se describe la intensidad de cada efecto, a menos que se especifique (por ejemplo, "piloerección pronunciada")

La temporización de los procedimientos también debería tenerse en cuenta. Existirá obviamente un riesgo de malestar o dolor en el periodo postoperatorio. Por ejemplo, inmediatamente después de someter a ratas a varios tipos de cirugía abdominal tales como laparotomía, adrenalectomía y manipulaciones en la vejiga, los animales han mostrado comportamientos específicos como "twitching" (normalmente observados en forma de rápidos movimientos del pelaje del lomo), arquear el lomo, presionarse el abdomen y retorcerse.⁹ Tales comportamientos se han detectado en varias frecuencias dependiendo del nivel de malestar y es necesario observar a cada rata durante al menos 5 min para asegurarse de que son detectados. Si no se tratan, estos comportamientos pueden estar presentes hasta 24 h después del procedimiento.

Sería necesario evaluar a los animales con mayor frecuencia después de la cirugía para comprobar si los analgésicos han hecho efecto. Las observaciones podrán espaciarse siempre que no haya complicaciones.

2.5.3. Entorno de alojamiento

El tiempo destinado a la evaluación del bienestar debería tener en cuenta el enriquecimiento ambiental tal como el material para nidos, refugios y otras estructuras disponibles. Podría ser necesario mover algunos elementos o abrir los nidos para observar a los animales de forma adecuada.

2.5.4. Prácticas de cría

Las molestias causadas por los procedimientos de cría tales como limpieza de cubetas pueden tener un efecto significativo sobre el comportamiento y fisiología animales. Después de la limpieza de las cubetas en la rata,

los comportamientos exploratorios, el uso de refugios, el ritmo cardiaco y la frecuencia cardiaca aumentan de modo considerable.³⁸⁻⁴¹ Los parámetros fisiológicos y de comportamiento pueden tardar hasta dos horas en volver a niveles anteriores al traslado en roedores,⁴¹ tiempo durante el cual estas respuestas pueden enmascarar indicadores importantes y confundir la evaluación del bienestar. Podría ser recomendable llevar a cabo la evaluación del bienestar una o dos horas después de los procedimientos de cría tales como el cambio de cubeta, siempre que la intensidad del procedimiento no requiera monitorización más frecuente

2.5.5. El ritmo circadiano normal de los animales

Es preferible observar a los animales durante el intervalo en el que normalmente estarían más activos, a menos que exista la posibilidad de perturbar el sueño como un efecto adverso. Evaluar a los animales despiertos y activos reducirá la probabilidad de pasar por alto signos esenciales. En el caso de la mayoría de roedores, esto significa llevar a cabo la evaluación durante el periodo de oscuridad, cuando están normalmente activos.⁹ Existen evidentes problemas de recursos humanos a la hora de observar los animales por la noche, pero puede alojarse a los animales en un régimen de luz alterado o invertido. También pueden emplearse las interrupciones en el ciclo circadiano como indicadores de bienestar. Por ejemplo, la interrupción del sueño, actividad y nivel de respuesta reducidos durante periodos normalmente de gran actividad, o el aumento de actividad cuando los animales deberían estar inactivos, podrían indicar efectos adversos.^{25, 42} El personal encargado de los cuidados podría detectar cambios en los patrones de comportamiento circadiano, o podría ser apropiado usar técnicas de monitorización sofisticadas tales como la video monitorización (que puede acelerarse o probarse para su análisis), toma de imágenes digitales o sistemas automatizados de reconocimiento de comportamientos tales como Observer® (Noldus Information Technology, Wageningen, Países Bajos), Trafficage® (NewBehaviour AG, Zurich, Suiza) o HomeCageScan® (Clever Systems Inc, Reston, VA, EE.UU.).

Tabla 9 Puntos que hay que comprobar antes de utilizar el protocolo de evaluación de bienestar

El sistema de evaluación de bienestar es apropiado y adecuado para la especie, cepa y procedimiento experimental

Todo el mundo tiene claro el objetivo del experimento y los objetivos científicos

Todo el mundo sabe lo que se hará a los animales, respecto a los procedimientos científicos que se llevarán a cabo (incluyendo la temporización y número de animales), los signos que deben esperarse y cuáles son los límites

Todo el personal relevante (por ejemplo técnicos y personal a cargo de los cuidados, científicos) saben cómo utilizar el sistema y pueden reconocer los signos e interpretarlos de forma clara como puntos de intervención

El resto de personal relevante, que no forman parte del equipo de evaluación del bienestar, pero que directa o indirectamente participan en el cuidado de los animales, está informado sobre el proyecto y protocolo de evaluación a un nivel adecuado

En caso necesario, las hojas de evaluación se han actualizado en base a nuevos signos o combinaciones de signos observados: son documentos "vivos"

Están claras las líneas de comunicación para informar de cualquier preocupación sobre los animales o del personal a los responsables (por ejemplo, el investigador, veterinario, técnico o cuidador senior)

3. Evaluación práctica del bienestar

Esta sección proporciona pautas genéricas para la práctica de la evaluación del bienestar, que puede aplicarse no solo a mamíferos domésticos, sino también a animales salvajes, peces, reptiles, aves y anfibios. Antes de implementar el protocolo de evaluación del bienestar, podría ser de utilidad repasar la lista de la Tabla 9.

3.1. Hacer observaciones

Tener a la misma persona, o a un grupo muy pequeño de personas observando a los animales, siempre que sea posible, puede mejorar la congruencia y permitir a los evaluadores un seguimiento más exacto de la progresión del estado de los animales.⁴³ Los animales también podrían ser capaces de notar diferencias entre personas diferentes (por ejemplo, en base a olores individuales), por lo que podrían beneficiarse del contacto con personal habitual y conocido en lugar de con extraños.⁴⁴ Evitar los cambios de personal también supone una satisfacción profesional para los técnicos de animalarios y personal encargado de los cuidados, ya que muchos de ellos prefieren estar a cargo de los mismos animales durante todo el estudio.

3.1.1. Observación desde la distancia

La evaluación de la apariencia general, postura y comportamiento sin provocarles ninguna respuesta proporciona información muy útil, por lo que los animales deberían ser observados al principio desde la distancia y sin moverse, acercarse o entrar en el recinto, o abrir la jaula. Esto permite al observador ver si hay comportamientos no provocados que puedan indicar problemas de bienestar, tales como animales sociales aislados de sus compañeros, o animales nocturnos inmóviles pero fuera del nido. De forma alternativa, los individuos pueden estar jugando, buscando comida o acicalándose, indicando que el bienestar es con toda probabilidad positivo. Los animales deberían ser observados durante el periodo de tiempo predeterminado para asegurar que los indicadores relevantes van a ser detectados.

El recinto también debería observarse para ver si actividades como construcción de nidos, búsqueda de alimento o mordisquear se han reducido, o si hay problemas de salud tales como sangrado, vómitos o anomalías en las heces (Figura 2). Los indicadores clínicos de comportamiento que puedan observarse sin tocar al animal o influenciar su comportamiento deberían ser anotados en las hojas de observación en esta fase. Estos incluyen piloerección, cambios de postura, alteraciones en la frecuencia opercular en peces, comportamientos huidizos en anfibios, movilidad reducida o especial atención al área de una herida quirúrgica en cualquier especie. Estos signos pueden ser o específicos del proyecto o inesperados, en cuyo caso deberían incluirse en el apartado para texto libre en caso de estarse usando una hoja de evaluación estructurada.

3.1.2. Abrir la cubeta o entrar en el recinto

El siguiente paso es examinar el recinto con más detalle, quitando la tapa de la cubeta o entrando en el recinto (o acercándose a poca distancia, según convenga). Los elementos o materiales para nidos deberán retirarse o

apartarse en caso necesario, y las reacciones del animal a esto (así como a la presencia del observador) deberán observarse durante un periodo de tiempo adecuado, tal y como se haya determinado previamente. La mayoría de las especies normalmente responderán con un aumento de la actividad seguido de un periodo de estabilización. Cualquier signo esperado o inesperado deberá registrarse, igual que anteriormente.

3.1.3. Manipulación de los animales

Tras completar las comprobaciones iniciales indicadas anteriormente, los animales terrestres deberán ser atrapados y manipulados individualmente para medir y puntuar criterios generales relevantes tales como peso y condición corporales, y temperatura. Este también es el momento para evaluar aquellos criterios específicos que requieran manipulación, tales como inflamación de la piel, áreas sensibles, medición de tumores o parámetros que requieran tomas de muestras de sangre. La manipulación es estresante para muchos animales, lo que puede afectar tanto al bienestar animal como a los datos científicos.¹⁶ Observar a los animales después de la manipulación (por ejemplo, para registrar el peso corporal) puede facilitar la observación de algunos comportamientos relevantes, tales como los comportamientos posteriores a la cirugía enumerados en la sección 2.5.2., y reducir el tiempo necesario para la evaluación.

No siempre es apropiado manipular a los animales. La manipulación puede causar malestar o dolor posterior a ciertos procedimientos, o retirar a los animales de sus cubetas puede causar demasias molestias en algunas circunstancias, como en algunos animales acuáticos o hembras que están criando. En estos casos, debería dedicarse más tiempo a la inspección visual cuidadosa.

3.2. Subrayar problemas potenciales de bienestar

Llevar a cabo observaciones y anotarlas en las hojas de evaluación, tal como se explicó anteriormente, puede significar que existe un problema de bienestar. Esto puede deberse a la presencia de un indicador clave, porque la puntuación del animal ha alcanzado un nivel umbral, o simplemente porque alguien tiene la impresión de que algo puede estar mal. La acción que debe emprenderse, en caso de que los animales estén sufriendo, deberá haber sido ya acordada y comprendida por todos. Deberá haber una clara estrategia de información y todo el mundo debería tener claras sus responsabilidades dentro de ella.

También debería establecerse un sistema para señalar los recintos que contengan animales que sean causa de preocupación por cualquier motivo. Todo el personal deberá saber que los animales alojados en estos recintos señalados requieren especial atención y monitorización adicional.¹¹ Algunos métodos de uso común para atraer la atención hacia animales con problemas de bienestar incluyen paneles con mensajes fuera de la sala y marcas de colores en los recintos.

4. Análisis de los registros de bienestar

Un análisis regular de los registros de evaluación del bienestar, tanto durante como después del proyecto, es esencial para asegurar que los sistemas de evaluación del

falta la figura

bienestar están funcionando de forma efectiva; evidenciar cualquier cambio en los efectos adversos registrados; y asegurar que cualquier cambio en la naturaleza del proyecto, conocimientos sobre el comportamiento animal o nuevas técnicas de evaluación, se tienen en cuenta.⁴

4.1. Analizar efectos adversos durante el proyecto

El objetivo clave del análisis de la evaluación del bienestar es examinar con qué eficiencia se predicen, reconocen y alivian los efectos adversos (Tabla 10). Esto puede hacerse en una o más fases establecidas durante un proyecto, y/o en respuesta a preocupaciones específicas sobre el bienestar animal o la eficiencia del sistema de evaluación del bienestar que puedan surgir. Una ventaja de establecer momentos de análisis internos apropiados, durante la duración de un proyecto, es que los sistemas de observación iniciales de largo alcance (por ejemplo, en el caso de un estudio piloto o un AMG) pueden modificarse para incluir solo los parámetros o momentos más relevantes. Esto contribuye a un uso más eficiente de los recursos así como a una evaluación del bienestar más efectiva.

El análisis interno también debería ayudar a detectar cualquier derivación de las consecuencias del bienestar y los indicadores clínicos o de comportamiento relacionados a lo largo del tiempo. Esto puede deberse a factores tales como cambios en el genotipo o variedad del animal utilizado, cambios en el personal que lleva a cabo los procedimientos o en la duración del estudio, incluyendo el envejecimiento de los animales en estudios de larga duración. Podría ser apropiado informar del resultado de análisis internos a los comités éticos o de uso y cuidado animal.

Debería contarse siempre con un análisis retrospectivo del registro de la evaluación del bienestar siempre que se haya

completado un proyecto, que debería contribuir a análisis éticos y científicos del proyecto completo.⁴⁶ Esto debería incluir los elementos del análisis interno indicados en la Tabla 10.

5. Relación con comités éticos o de cuidado y uso animal

Podría ser de utilidad para el equipo de evaluación del bienestar estar en contacto con las personas relevantes de los comités éticos o de cuidado y uso animal durante la etapa de planificación, para mantener a los comités informados del protocolo de evaluación del bienestar y para obtener más ayuda para que sean efectivos y aceptables en lo que respecta a los principios de cuidados de la institución.

Dependiendo de la naturaleza y papel del comité, los temas de debate podrían incluir:

- Aquellos relacionados con los animales a lo largo del proyecto, desde el origen hasta la eutanasia, reutilización, puesta en libertad o traslado a otro alojamiento.
- Lo que cada animal experimentará y qué efectos adversos para el bienestar son posibles (incluyendo los procedimientos experimentales, no solo sus resultados).
- Qué parámetros serán monitorizados a lo largo de la evaluación del bienestar y cómo se decidirán.
- Con qué frecuencia se evaluará a los animales, cuándo y por qué.
- Cómo se registrarán y analizarán las observaciones.
- Explicaciones para los criterios de punto final,

cómo se han establecido y qué sucederá en caso de que se excedan.

Esto facilitará el debate sobre el protocolo de evaluación del bienestar y podrá permitir su mejora antes de que se lleve a cabo por primera vez.

Tabla 10 Puntos que deben incluirse en los informes internos

La evaluación de los indicadores de bienestar; esto es, la frecuencia con la que se han observado, con el objetivo de eliminar los que sean redundantes o de ajustar el protocolo de observación

Análisis de las observaciones registradas en los cuadros de texto libre, para ver si deberían añadirse nuevos indicadores

Análisis de las intervenciones, incluyendo los criterios de punto final humanitarios, y si algún animal fue hallado muerto; correlación de estos con los datos de las hojas

Análisis de la temporización de las observaciones e intervenciones, para asegurarse de que la frecuencia de las observaciones es apropiada a lo largo del proyecto

Comprobación de la equivalencia entre diferentes observadores, usando opiniones externas donde convenga. El análisis estadístico puede usarse para confirmar la equivalencia en algunas circunstancias^{43, 45}

Comparación entre las previsiones de severidad hechas en la fase de planificación del proyecto y los niveles de severidad observados en la práctica

6. Acceso a más información

La evaluación del bienestar es un campo que se desarrolla rápidamente y es vital asegurarse de que el equipo de evaluación del bienestar recibe toda la información acerca de innovaciones científicas, técnicas y prácticas, para que puedan incorporarse en los protocolos de evaluación del bienestar. Además de a la literatura sobre evaluación del bienestar, se puede recurrir a otros campos para recabar información útil. Las revistas que publican artículos relevantes junto con ejemplos de palabras clave relacionadas con la evaluación del bienestar están listadas en el Apéndice

[<http://la.rsmjournals.com/cgi/content/full/la.2010.010031/DC1>]. Una persona del equipo de evaluación del bienestar puede encargarse de revisar frecuentemente estas publicaciones en busca de artículos relevantes. Comunicarse con otras instituciones y equipos de investigación para compartir experiencias con diferentes sistemas también puede ayudar a difundir las buenas prácticas y facilitar el intercambio de ideas.

7. Resumen de recomendaciones

7.1. Establecimiento del sistema de evaluación del bienestar

La buena práctica en la evaluación del bienestar se reconoce como necesaria para la buena ciencia así como para el bienestar animal. El trabajo en equipo en la evaluación del bienestar es lo más efectivo, donde la pertenencia al equipo se basa en la capacidad de cumplir competencias apropiadas. Son esenciales la cohesión y relaciones de trabajo constructivas en el equipo, tanto internamente como entre el equipo de evaluación del bienestar y otros comités éticos y de uso y cuidado animal. Deberá proporcionarse formación y entrenamiento a los miembros del equipo en base a las necesidades, para asegurar su competencia en el reconocimiento y la evaluación del bienestar.

El estándar base para un buen bienestar debería establecerse cuidadosamente, usando una lista general de indicadores simples y objetivos como base para el sistema de evaluación. Debería establecerse una lista de efectos adversos potenciales específicos de cada proyecto particular, usando una amplia serie de fuentes informativas. El siguiente paso es predecir aquellos signos clínicos o de comportamiento que podrían asociarse a cada efecto adverso, teniendo en cuenta la dificultad de reconocer y analizar cada uno de ellos. En la etapa de planificación del proyecto también se definirán los puntos de intervención y los criterios de punto final, como parte del proceso de establecimiento del sistema de evaluación. Podría ser necesaria la realización de estudios piloto para definir los indicadores de bienestar. Deberán investigarse los conocimientos actuales sobre los indicadores de bienestar positivos e incorporarlos al protocolo cuando convenga.

Deberá tenerse un enfoque flexible en la elección del sistema de registro. Las hojas de evaluación del bienestar animal organizadas pueden reducir la subjetividad, pero deberá tenerse cuidado al interpretar las hojas de puntuación numérica, ya que la ponderación y suma no siempre son evidentes. Puede minimizarse el riesgo de pasar por alto signos esenciales considerando minuciosamente, cuándo, durante cuánto tiempo y con qué frecuencia, serán evaluados los animales. Es importante establecer un equilibrio entre la confianza en una evaluación objetiva y el juicio de la experiencia humana: ambos son necesarios y complementarios. El protocolo de evaluación del bienestar propuesto deberá debatirse con todos los comités relevantes; con el objetivo de explicar cómo será evaluado el bienestar y reducido el sufrimiento, y para obtener sus aportaciones y consejos si esto forma parte de sus competencias.

7.2. Utilización del sistema de evaluación del bienestar

El equipo de evaluación del bienestar debería recibir la información adecuada, de modo que todo el mundo sepa lo que debe hacer. Los sistemas de registro, tales como hojas de evaluación, deberán actualizarse si es preciso. Los animales y su recinto normalmente se observarán desde la distancia antes de abrir la jaula, o entrar en el recinto y manipular a los animales. Se necesitan sistemas claros para evidenciar las preocupaciones sobre el bienestar si se considera que el sufrimiento es significativo o alcanza límites predeterminados. Esto incluye asegurarse de que todo el mundo está al tanto de los requisitos para la intervención y los criterios de punto final y sabe cuándo debe actuar. Deberán mantenerse una excelente comunicación y trabajo en equipo entre todas las personas participantes en el estudio y el equipo de evaluación del bienestar. Esto asegurará el buen funcionamiento de todo el equipo para la rápida resolución de problemas en caso de requerirse intervención. Deberá siempre otorgarse el beneficio de la duda a los animales en relación a si están o no sufriendo.

7.3. Análisis del sistema de evaluación del bienestar

Tanto los análisis internos planificados como los elaborados

ad hoc, necesitan llevarse a cabo de modo apropiado. Parte de este proceso requiere relacionar observaciones hechas en la práctica con las predicciones del nivel y naturaleza de los efectos adversos hechas durante la planificación del proyecto. Pueden llevarse a cabo análisis retrospectivos de los registros de evaluación del bienestar cuando se hayan completado los proyectos, en conjunción con análisis éticos y científicos e informes sobre requisitos en base a las necesidades. Estos resultados deberían comunicarse a todos aquellos que puedan beneficiarse. Por ejemplo, los nuevos conocimientos sobre comportamiento y evaluación del bienestar obtenidos de la literatura científica o de la asistencia a reuniones deberían incorporarse a los protocolos de evaluación del bienestar.

AGRADECIMIENTOS

Gracias a Mary Mowat y Barry Phillips por sus aportaciones y útiles comentarios respecto a la estructura de este recurso.

REFERENCIAS

- 1 Russell WMS, Burch RL. *The Principles of Humane Experimental Technique*. London: Methuen & Co Ltd, 1959
- 2 Nuffield Council on Bioethics. *The Ethics of Research Involving Animals*. London: Nuffield Council on Bioethics, 2005. See <http://www.nuffieldbioethics.org/> (last checked 26 May 2010)
- 3 Reinhardt V, Reinhardt A. *Variables, Refinement and Environmental Enrichment for Rodents and Rabbits Kept in Research Institutions*. Washington, DC: Animal Welfare Institute, 2006
- 4 National Health and Medical Research Council. *Guidelines to Promote the Wellbeing of Animals used for Scientific Purposes: The Assessment and Alleviation of Pain and Distress in Research Animals*. Canberra: Australian Government, 2008. See <http://www.nhmrc.gov.au/> (last checked 26 May 2010)
- 5 Institute for Laboratory Animal Research (ILAR). *Recognition and Alleviation of Distress in Laboratory Animals*. Washington, DC: National Academy Press, 2008
- 6 Morton DB, Griffiths PHM. Guidelines on the recognition of pain, distress and discomfort in experimental animals and an hypothesis for assessment. *Vet Rec* 1985;116:431–6
- 7 Morton DB. Adverse effects in animals and their relevance to refining scientific procedures. *ATLA* 1990;18:29–39
- 8 Firth AM, Haldane SL. Development of a scale to evaluate postoperative pain in dogs. *JAVMA* 1999;214:651–9
- 9 Roughan JV, Flecknell PA. Behavioural effects of laparotomy and analgesic effects of ketoprofen and carprofen in rats. *Pain* 2001;90:65–74
- 10 Murrell JC, Psatha EP, Scott EM, et al. Application of a modified form of the Glasgow pain scale in a veterinary teaching centre in the Netherlands. *Vet Rec* 2008;162:403–8
- 11 Hawkins P. Recognising and assessing pain, suffering and distress in laboratory animals. *Lab Anim* 2002;36:378–95. See <http://tinyurl.com/yc37duj> (last checked 26 May 2010)
- 12 Mason G, Rushen J, eds. *Stereotypic Animal Behaviour – Fundamentals and Applications to Welfare*. Wallingford, UK: CABI, 2006. See <http://www.aps.uoguelph.ca/~gmason/StereotypicAnimalBehaviour/index.shtml> (last checked 26 May 2010)
- 13 Mellor DJ, Reid CSW. Concepts of animal well-being and predicting the impact of procedures on experimental animals. In: Baker RM, Jenkins G, Mellor DJ, eds. *Improving the Well-being of Animals in the Research Environment*. Glen Osmond, Australia: ANZCCART, 1994:3–18
- 14 Mason G, Wilson D, Hampton C, Wu' rbel H. Non-invasively assessing disturbance and stress in laboratory rats by scoring chromodacryorrhoea. *ATLA* 2004;32(Suppl. 1):153–9
- 15 Schreuder MF, Fodor M, van Wijk JAE, Delemarre-van de Waal HA. Weekend versus working day: differences in telemetric blood pressure in male Wistar rats. *Lab Anim* 2007;41:86–91
- 16 Burn CC, Deacon RM, Mason GJ. Marked for life? Effects of early cage-cleaning frequency, delivery batch, and identification tail-marking on rat anxiety profiles. *Dev Psychobiol* 2008;50:266–77
- 17 Dickinson AL, Leach MC, Flecknell PA. Influence of early neonatal experience on nociceptive responses and analgesic effects in rats. *Lab Anim* 2009;43:11–16
- 18 Leach MC, Thornton PD, Main DCJ. Identification of appropriate measures for the assessment of laboratory mouse welfare. *Anim Welf* 2008;17:161–70
- 19 Arras M, Rettich A, Cinelli P, et al. Assessment of post-laparotomy pain in laboratory mice by telemetric recording of heart rate and heart rate variability. *BMC Vet Res* 2007;3:16 doi: 10.1186/1746-6148-3-16. See <http://www.biomedcentral.com/1746-6148/3/16> (last checked 26 May 2010)
- 20 Wright-Williams SL, Courade J-P, Richardson CA, et al. Effects of vasectomy surgery and meloxicam treatment on faecal corticosterone

- levels and behaviour in tow strains of laboratory mouse. *Pain* 2007;130:108–18
- 21 Blackburn-Munro G. Pain-like behaviours in animals – how human are they? *Trends Pharmacol Sci* 2004;25:299–305
- 22 Langford DJ, Bailey AL, Chanda ML, et al. Coding of facial expressions of pain in the laboratory mouse. *Nat Methods* 2010;7:447–9
- 23 Morton DB, Hawkins P, Bevan R, et al. Refinements in telemetry procedures. *Lab Anim* 2003;37:261–99
- 24 FAWC (Farm Animal Welfare Council). *Farm Animal Welfare in Great Britain: Past, Present and Future*. London: FAWC, 2009. See <http://www.fawc.org.uk/pdf/ppf-report091012.pdf> (last checked 26 May 2010)
- 25 Abou-Ismaïl UA, Burman OHP, Nicol CJ, Mendl M. Can sleep behaviour be used as an indicator of stress in group-housed rats (*Rattus norvegicus*)? *Anim Welf* 2007;16:185–8
- 26 Van der Harst JE, Spruijt BM. Tools to measure and improve animal welfare: reward-related behaviour. *Anim Welf* 2007;16(Suppl. 1):67–73
- 27 Boissy A, Manteuffel G, Jensen MB, et al. Assessment of positive emotions in animals to improve their welfare. *Physiol Behav* 2007;92:375–97
- 28 Napolitano F, Knierim U, Grasso F, De Rosa G. Positive indicators of cattle welfare and their applicability to on-farm protocols. *Ital J Anim Sci* 2009;8(Suppl. 1):355–65
- 29 Hurst JL, Barnard CJ, Nevison CM, West CD. Housing and welfare in laboratory rats: welfare implications of isolation and social contact among caged males. *Anim Welf* 1997;6:329–47
- 30 Kirkwood JK, Roberts EA, Weddell S, et al. (eds). *Quality of life: the heart of the matter*. Proceedings of the UFAW/BVA Symposium. The Royal Society, London, 13–14 September 2006. *Anim Welf* 2007;16(Suppl. 1):1–179
- 31 Wemelsfelder F. How animals communicate quality of life: the qualitative assessment of behaviour. *Anim Welf* 2007;16(Suppl. 1):25–31
- 32 Yeates JW, Main DCJ. Assessment of positive welfare: a review. *Vet J* 2008;3:293–300
- 33 Honess P, Wolfensohn S. The extended welfare assessment grid: a matrix for the assessment of welfare and cumulative suffering in experimental animals. *ATLA* 2010;38:205–12
- 34 Shively CA, Register TC, Friedman DP, et al. Social stress-associated depression in adult female cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Biol Psychol* 2005;69:67–84
- 35 Olsson IAS, Nevison CM, Patterson-Kane EG, et al. Understanding behaviour: the relevance of ethological approaches in laboratory animal science. *Appl Anim Behav Sci* 2003;81:245–64
- 36 Rose M. Welfare phenotyping of genetically-modified mice. *ATLA* 2009;37:181–6
- 37 Hendriksen CFM, Steen B, Visser J, et al. The evaluation of humane endpoints in pertussis vaccine potency testing. In: Hendriksen CFM, Morton DB, eds. *Humane Endpoints in Animal Experiments for Biomedical Research*. Proceedings of the International Conference, 22–25 November 1998, Zeist, The Netherlands. London: Royal Society of Medicine Press, 1999:106–13
- 38 Duke JL, Zammit TG, Lawson DM. The effects of routine cage-changing on cardiovascular and behavioral parameters in male Sprague-Dawley rats. *Contemp Top Lab Anim Sci* 2001;40:17–20
- 39 Sharp J, Zammit T, Azar T, Lawson DM. Stress-like responses to common procedures in individually and group-housed female rats. *Contemp Top Lab Anim Sci* 2003;42:9–18
- 40 Burn CC, Peters A, Mason GJ. Acute effects of cage cleaning at different frequencies on laboratory rat behaviour and welfare. *Anim Welf* 2006;15:161–71
- 41 Castelhana-Carlos MJ, Baumans V. The impact of light, noise, cage cleaning and in-house transport on welfare and stress of laboratory rats. *Lab Anim* 2009;43:311–27
- 42 Abou-Ismaïl UA, Burman OHP, Nicol CJ, Mendl M. Let sleeping rats lie: does the timing of husbandry procedures affect laboratory rat behaviour, physiology and welfare? *Appl Anim Behav Sci* 2008;111:329–41
- 43 Honess P, Gimpel J, Wolfensohn S, Mason G. Alopecia scoring: the quantitative assessment of hair loss in captive macaques. *ATLA* 2005;33:193–206
- 44 Smith JJ, Hadzic V, Li X, et al. Objective measures of health and well-being in laboratory rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *J Med Primatol* 2006;35:388–96
- 45 Channon AJ, Walker AM, Pfau T, et al. Variability of Manson and Leaver locomotion scores assigned to dairy cows by different observers. *Vet Rec* 2009;164:388–92
- 46 Jennings M, Howard B. *Guidance Notes on Retrospective Review: A Discussion Document Prepared by the LASA Ethics and Training Group*. *T a m w o r t h : L A S A , 2 0 0 4 . S e e <http://www.lasa.co.uk/publications.html>*

(consultado por última vez el 26 de mayo de 2010)

APÉNDICE

El Apéndice presenta revistas, recursos online y foros de debate útiles relacionados con la evaluación del bienestar. Forma parte del informe completo o puede descargarse por separado en
[<http://la.rsmjournals.com/cgi/content/full/la.2010.010031/DC1>]