



Documentación de

NTP 468: Trabajo con animales de experimentación

Travail avec des animaux d'expérimentation
Work with experimental animals

Redactoras:

Rosa M^a Alonso Espadalé
Lda. en Ciencias Biológicas

Maria del Carme Martí Solé
Lda. en Farmacia

Angelina Constans Aubert
Ingeniero Técnico Químico

CENTRO NACIONAL DE CONDICIONES DE TRABAJO

En esta Nota Técnica se exponen los principales riesgos que comporta el trabajo con animales de experimentación, las recomendaciones destinadas al cuidado de dichos animales y la importancia del diseño de los locales como medida fundamental para la reducción de riesgos.

Introducción

La investigación científica exige en determinadas circunstancias el empleo de animales como modelos de experimentación. Por razones éticas, prácticas y legales, el número de animales empleados en estas prácticas debe ser el mínimo, optando si es posible, por técnicas alternativas que puedan aportar el mismo nivel de información que el obtenido en experimentos con animales. En el Real Decreto 223/1988 sobre la protección de los animales de experimentación y en el artículo 5 del Convenio Europeo de 1986 sobre la protección de los vertebrados utilizados con fines experimentales y otros fines científicos, se establece cuando está justificada la experimentación animal y las condiciones que deben reunir los locales en donde se alojan éstos.

Por otro lado, la propia investigación puede requerir disponer de animales deliberadamente infectados, con el correspondiente riesgo de contaminación. Además debe tenerse en cuenta que los mismos animales de experimentación pueden ser reservorios naturales de enfermedades de tipo infeccioso, producir alergias, ser fuente de accidentes a través de arañazos, mordeduras, picaduras, etc. Por todo ello, su manipulación presenta siempre un riesgo de exposición a agentes biológicos, siendo de aplicación en este caso la normativa existente, concretamente el **Real Decreto 664/1997** y la **Orden de 25 de marzo de 1998** sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados a agentes biológicos durante el trabajo.

Organización y distribución del área destinada a los

animales de experimentación

A los animales se les proporcionará un alojamiento confortable, higiénico y de dimensiones suficientes de forma que les pueda garantizar cierto grado de libertad o de movimiento, así como agua, alimentos y cuidados adecuados a su salud y bienestar, de acuerdo con las necesidades de cada especie. Diariamente, personal cualificado se encargará de comprobar que las condiciones en que viven los animales, así como su salud, son correctas. Al final de todo experimento, debe decidirse si el animal ha de mantenerse con vida o ser sacrificado mediante métodos que impliquen el mínimo sufrimiento físico y mental.

El área destinada a la experimentación animal (unidad animal) incluye los siguientes locales:

- Sala/s donde se alojan los animales de forma permanente (animalario, estabulario). Estas salas han de estar diseñadas en función del tipo de animales almacenados, del riesgo que representan y con las medidas de protección correspondientes.
- Sala/s de cuarentena, necesarias para la prevención de las posibles zoonosis. La recepción de nuevos animales no debe suponer un peligro para los que ya se encuentran en la unidad.
- Sala/s de manipulación o laboratorio, en donde se llevan a cabo los tratamientos, las inoculaciones, intervenciones o autopsias. Una de estas salas debe estar equipada para la realización de experimentos quirúrgicos en condiciones asépticas. Es también aconsejable disponer de otra para períodos post operatorios.
- Sala de limpieza, para lavado de cajas, camas, jaulas y material.
- Almacén y vestuario para el personal, que debe estar situado en una zona adyacente.

En el apartado *Instrucciones para el trabajo en las unidades animales en función del nivel de seguridad* se exponen las características específicas de estos locales en función del nivel de seguridad exigido.

Riesgos debidos a la manipulación de animales

Los riesgos derivados de los animales que se utilizan en experimentación pueden clasificarse en:

- Riesgos inherentes a los animales: Los animales pueden ser portadores de enfermedades infecciosas, que pueden transmitir al personal de la unidad animal.
- Riesgos resultantes de la investigación realizada con estos animales (aplicación de vacunas, investigación de fármacos, etc.).
- Riesgos generados por los animales transgénicos. Estos animales son susceptibles de presentar patologías infecciosas muy particulares y estados inmunológicos modificados. Existe poca información al respecto, aunque por lo general los laboratorios o empresas que manipulan estos animales suelen partir de niveles de seguridad biológica elevados.

En la práctica, los riesgos derivados del trabajo con animales de experimentación deberían estar limitados por el hecho de respetar las medidas reglamentarias de aprovisionamiento y la supervisión veterinaria indispensable. Cuando se trata de evaluar el riesgo biológico es fundamental conocer la especie animal con la que se está investigando, las infecciones que puede transmitir, la naturaleza de los agentes infecciosos, etc. Es sabido, por otro lado, que cuanto más alejada filogenéticamente sea la especie de los seres humanos, menor suele ser el riesgo de transmisión de infecciones, como ocurre por ejemplo con los peces y anfibios.

Recomendaciones generales destinadas a la protección de los trabajadores

El personal que trabaja con animales debe estar informado de los riesgos inherentes al trabajo que realiza y recibir formación sistemática en materia de técnicas, instrumentación, métodos de trabajo y equipos de protección individual con el fin de evitar la posibilidad de con traer una enfermedad, y de impedir la dispersión del agente biológico dentro y fuera del laboratorio de experimentación animal, con el consiguiente peligro para los trabajadores y la comunidad. Desde el punto de vista estructural, los servicios relacionados con las instalaciones de los animales (almacenes de camas, de alimentos para los animales o de jaulas), así como los vestuarios y lavabos del personal, excepto cuando el nivel de seguridad requerido indica lo contrario, deben hallarse fuera de la unidad animal, pero cerca de ella.

En el trabajo de experimentación con animales, se pueden adoptar los criterios generales aplicables a los laboratorios y centros de trabajo donde se manipulan agentes biológicos, teniendo en cuenta el tipo de microorganismo con el que se trabaja, o puede ser portador el animal y, en consecuencia, aplicando el nivel de seguridad biológica correspondiente. (Véase **NTP 376**).

En la tabla 1 se exponen de manera resumida las medidas básicas a aplicar según los diferentes niveles de seguridad (contención 2, 3 y 4).

Tabla 1. Medidas de seguridad que se deben emplear en las unidades de animales. (Tomado de Simons y Sotty, 1991)

MEDIDAS PARTICULARES SIGUIENDO LOS NIVELES DE SEGURIDAD BIOLÓGICA (NSB)			
	NSB 2	NSB 3	NSB 4
Equipos para el personal	Bata cerrada por la espalda, guantes y gafas	Mono, máscara quirúrgica	Compartimento con ducha; mono cerrado o máscara
Limpieza del material	Sistema de autoclave recomendado antes de lavar	Sistema de autoclave obligatorio antes de mover las camas Material desechable	
Control de los accesos	Personal informado y cuya presencia sea necesaria	Exclusión de personas con riesgo	Normas estrictas Plan de urgencia en caso de accidente
Materiales	Jeringas con racor o desechables	Cánulas en lugar de agujas	
Residuos	Sistema de autoclave recomendado Incineración de cadáveres	Sistema de autoclave obligatorio Incineración	Autoclave con doble entrada

		Transporte en bolsa estanca	
Equipos especiales		Cabina con flujo laminar vertical (Clase II) Jaulas con tapa filtrante	Cabina estanca con guantes ventilada y filtrada (Clase III)
Las puertas de la unidad de animales han de tener cerradura automática. Prohibición de comer, beber, fumar en la unidad de animales y de introducir productos de uso humano.		Higiene elemental: lavado de manos antes de abandonar la unidad de animales. Luchar contra los insectos y los roedores. Minimizar la formación de polvo y aerosoles.	

Instrucciones para el trabajo en las unidades animales en función del nivel de seguridad requerido

NIVEL DE SEGURIDAD 1 (Medidas básicas)

Infraestructura

Los locales deben ser cerrados y protegidos procurando que las salidas hacia el exterior sean las menos posibles. Las puertas de la unidad animal deben tener un dispositivo de cerradura automática y permanecer cerradas.

Los techos, paredes y suelos deben ser de materiales resistentes y con un recubrimiento no poroso fácil de lavar y de desinfectar. El suelo debe ser uniforme, impermeable y antideslizante, capaz de soportar sin peligro el peso y el desplazamiento de las jaulas o de cualquier otro equipo móvil. Los sifones de los desagües deben ser descontaminados regularmente.

Todas las aberturas (puertas, ventanas, bocas de aireación, orificios de evacuación de líquidos, etc.) deben estar provistas de dispositivos que impidan la entrada de insectos, roedores salvajes u otros animales que pueden ser portadores de agentes patógenos para el hombre. Deberá informarse al responsable de la unidad animal de cualquier intrusión de este tipo que se produzca.

En cada local destinado a la instalación de animales debe haber un lavabo para el lavado de manos y se ha de prever una instalación para el lavado de jaulas. La superficie que recubre el suelo de las jaulas no sólo debe mantenerse limpia sino que es imprescindible que sea renovada periódicamente a fin de evitar que se convierta en una fuente de infección e infestación de parásitos. Las jaulas limpias se guardarán en un local separado.

Debe disponerse de locales separados para el almacenaje de los alimentos y para las camas de los animales. El almacén de alimentos debe situarse en una zona fresca, seca y libre de parásitos e insectos, mientras que el de camas deberá situarse en un lugar seco y libre de parásitos e insectos.

Según el origen de los animales, los locales deben estar preparados para una cuarentena, cuya duración será variable según las especies y tanto más larga cuanto mayor sea el riesgo de zoonosis. Para llevar a cabo la cuarentena, los locales deberán estar adecuados al nivel de riesgo estimado, y la conducta que se debe seguir por el personal será la correspondiente a dicho nivel.

Deben tomarse medidas de seguridad para evitar fugas de animales al exterior (barreras

sucesivas, neutralización). Si se escapan de las jaulas pequeños roedores u otros animales de laboratorio, se sacrificarán una vez capturados y se eliminarán como residuo sanitario no específico, grupo II (véase **NTP 372**).

Habrá que notificar inmediatamente cualquier enfermedad o muerte inesperada que se produzca entre los animales. A los que presenten una enfermedad imprevista no se les tocará mientras no se reciban instrucciones al respecto del responsable de la unidad animal o de otra persona competente.

El sistema de ventilación debe ser apropiado a las exigencias termohigrométricas de las especies albergadas y garantizar alrededor de 15 renovaciones/hora para la reducción de los malos olores y las concentraciones de gases y vapores en aire, circulando siempre del lugar menos contaminado al más contaminado. En algunas circunstancias puede requerirse un factor de renovación mayor (hasta 20 o más renovaciones/hora), o bien, cuando la densidad de ocupación sea baja, podrían ser suficientes de 8 a 10 renovaciones/hora o incluso no ser imprescindible la renovación mecánica.

Conducta del personal

Todo el personal (cuidadores o investigadores) entrará en la sala de manipulación con bata o guardapolvo específicos para este cometido, permitiéndose la entrada únicamente a las personas que vayan a participar en un experimento o a las que haya sido expresamente autorizada su entrada por el responsable de la instalación.

Es necesario lavarse las manos cuidadosamente después de manipular animales muertos o vivos y siempre al abandonar el local. Las heridas que se produzcan al manipular animales, por triviales que parezcan, deben ser objeto de tratamiento inmediato. Conviene estimular la hemorragia y lavar después la herida con abundante agua y jabón; se aplicará luego un apósito protector y se procurará iniciar el tratamiento lo antes posible. Estos requisitos se aplicarán especialmente a las heridas causadas por los animales.

Estará prohibido comer, beber, fumar y almacenar alimentos de consumo humano dentro de los locales destinados a los animales. Se adoptarán procedimientos de trabajo, que impidan o minimicen la generación de aerosoles. Debe tenerse en cuenta que la excreción de agentes por la saliva, heces y la orina contaminan las jaulas y las camas de los animales y cuando éstas se remueven pueden generarse aerosoles.

Todo el personal que trabaje en la sección destinada a los animales estará inmunizado contra el tétanos, así como también contra todas aquellas enfermedades que se crea conveniente y para las que, evidentemente, se disponga de vacuna. Debe tenerse en cuenta también que todos los animales de experimentación pueden ser portadores asintomáticos de microorganismos peligrosos para el hombre.

Hay que tomar precauciones especiales con los medicamentos administrados a los animales de laboratorio con fines de sedación o eutanasia, debiéndose llevar un estricto control de los mismos. Como norma general, al menos uno de los trabajadores de la unidad animal debe estar informado de las medidas de emergencia aplicables en casos de autoinyección accidental del operador. Debe tenerse especial precaución en la utilización de los anestésicos volátiles, ya que en los recintos cerrados pueden afectar al personal y también pueden generar atmósferas explosivas.

Alojamiento de los animales

Las jaulas, cajas, estanterías e instalaciones en general, deben construirse con materiales

apropiados y estar concebidos de manera que no presenten ningún riesgo para el animal y puedan desinfectarse fácilmente. En todo caso, sus condiciones deberán ajustarse a las directrices emanadas del convenio Europeo de 1986, cita da anteriormente.

Debe estar garantizado un control periódico de los animales. A su llegada, deben ser cuidadosamente examinados por una persona competente, que defina las medidas de cuarentena eventuales. No pueden introducirse animales provenientes del exterior sin la autorización del responsable de la unidad.

Los cadáveres y desechos de los animales deben eliminarse rápidamente en las condiciones que se expresen en la reglamentación existente. (Véase **NTP 372**). En la espera, se guardarán en un frigorífico dentro de un embalaje estanco, descuartizado si se trata de un animal grande. En caso de marcaje radiactivo, las condiciones de eliminación son las definidas en la reglamentación sobre residuos radiactivos y deben respetarse rigurosamente.

NIVEL DE SEGURIDAD 2

Infraestructura

La unidad animal estará situada en una zona del edificio especialmente reservada para ello, alejada de las zonas de paso. El acceso a la misma estará concebido de forma que permita al personal cambiarse de ropa para acceder a dicha unidad y deberá disponerse de un autoclave cerca de la misma.

Las jaulas de los animales deben ser desinfectadas preferentemente por autoclavaje. Si esto no es posible, la desinfección se llevará a cabo mediante una solución descontaminante eficaz (hipoclorito sódico, por ejemplo). También las superficies de trabajo se descontaminarán inmediatamente al finalizar un experimento.

La señalización internacional de peligro biológico (ver fig.1) se colocará en las puertas de la unidad animal, todas las aberturas de la cual se podrán cerrar herméticamente.



Fig. 1: Señal de peligro biológico

Conducta del personal

Será obligatorio llevar guantes, resistentes a las mordeduras y arañazos cuando se manipulen animales infectados, o impermeables cuando la exposición cutánea al material infeccioso sea inevitable.

El personal se cambiará de ropa de trabajo y zapatos al entrar y salir de la unidad animal.

Son aconsejables los zapatos cerrados y, llegado el caso, se usarán con fundas protectoras. También es recomendable el uso de mascarillas quirúrgicas.

El acceso a la unidad animal se limitará al personal que esté específicamente informado del riesgo biológico y cuya presencia sea necesaria para la investigación que se lleve a cabo. El médico de empresa será quien determine las personas, que por ser de alto riesgo, no estarán autorizadas a entrar en el animalario.

Alojamiento de los animales

Deben tomarse precauciones para evitar toda agresión por parte de los animales durante las diferentes fases de la experimentación. Por ello, deberán utilizarse jaulas de contención y se deberá anestesiarse al animal antes de cogerlo.

Toda manipulación susceptible de generar un aerosol infeccioso deberá efectuarse dentro de una cabina de seguridad biológica (clase I o II) o con una protección personal facial (máscara, gafas), sobre todo en autopsias de animales infectados, en la recogida de tejidos infectados, líquidos orgánicos o huevos infectados y en la inoculación intranasal de material infeccioso.

Los residuos de la unidad animal se descontaminarán (en el autoclave o en una cabina de fumigación) antes de ser eliminados por las vías convencionales. Los animales muertos se evacuarán del animalario en bolsas de plástico dobles, soldadas y estancas o en contenedores herméticos y se eliminarán como residuo sanitario específico o de riesgo, grupo III.

NIVEL DE SEGURIDAD 3

Infraestructura

Los dispositivos de lavado de manos serán con accionamiento mediante el codo, el pie o bien de manera automática, y se colocarán próximos a la puerta de salida. El autoclave estará situado en el interior de la unidad animal. Cuando se trate de animales grandes, se dispondrá de un dispositivo de fumigación o de un baño con desinfectante, con la posibilidad de acceso por el interior y el exterior de la unidad.

El acceso a la zona (nivel 3) deberá estar señalizado y provisto de un compartimento con doble puerta. Las ventanas no serán practicables. Debe disponerse de un vestuario con ducha, próximo a la puerta de entrada.

El sistema de ventilación debe evacuar el aire al exterior del edificio en una zona donde no haya ningún riesgo de reciclado. Si ello no es posible, el aire extraído deberá ser filtrado a través de filtro de alta eficacia HEPA (véase **NTP 376**). La entrada de aire debe ser de tal forma que en la unidad la corriente circule del exterior de la zona hacia el interior, estando el vestíbulo en depresión intermedia.

Si se utiliza un circuito de vacío, debe estar protegido por filtros HEPA y las trampas de agua han de contener un desinfectante apropiado. Se ha de desechar la conexión a un circuito de vacío general.

Conducta del personal

El vestuario de trabajo tiene que ser completo, con protectores de zapatos o botas y

máscara filtrante y se debe descontaminar antes de llevar a lavar. Mediante consignas estrictas, se definirá el método de descontaminación de la zona. Será obligatorio llevar guantes resistentes para la manipulación de los animales que se han de descontaminar en el autoclave después de usarlos.

Alojamiento de los animales

En cada local dedicado a una especie diferente de microorganismo, las jaulas ocupadas por los animales infectados deben estar situadas en recintos de seguridad adaptados.

El aire filtrado proveniente de estos recintos deberá expulsarse dentro del circuito de extracción principal del laboratorio o directamente al exterior, siempre con la garantía de que no haya riesgo de reciclado.

Los animales muertos deben ser colocados en una doble bolsa estanca dentro de la unidad; el exterior de la bolsa se descontaminará por fumigación o sumergiéndolo en un baño descontaminante. Después, debe eliminarse como residuo sanitario específico o de riesgo, grupo III.

Si es posible, las jaulas serán descontaminadas en el autoclave antes del cambio de la cama y antes de la limpieza. Para las jaulas de grandes dimensiones, se han de tomar precauciones particulares para la manipulación de las camas: se cubrirán las cubetas que contienen las camas con plástico sobresaliendo por los bordes de forma que se pueda coger por los extremos y pueda depositarse dentro de las bolsas de plástico fácilmente; la descontaminación de la jaula puede hacerse en un baño descontaminante, dentro de la unidad animal.

NIVEL DE SEGURIDAD 4

Infraestructura

La unidad animal estará situada en un edificio separado o dentro de una zona claramente aislada en el interior del edificio. Si hay aberturas, deberán estar selladas. Será obligatorio un vestuario de doble zona con ducha en cada entrada.

Las conducciones eléctricas, luminarias, bocas y conductos de aspiración, deberán concebirse de manera que la deposición de polvo sea la mínima posible. Los circuitos de ventilación deben ser totalmente estancos y las puertas de la unidad deberán poder cerrarse con llave. Una señal debe indicar cuando los animales infectados estén presentes en el interior de la misma.

El sistema de ventilación ha de ser autónomo, ha de mantener una depresión controlada, siempre circulando de la zona menos contaminada hacia las zonas de mayor contaminación. El aire extraído se filtrará a través de filtros HEPA y deberá expulsarse al exterior lejos de todas las bocas de aspiración de aire. Un sistema de alarma advertirá de cualquier fallo en el funcionamiento.

El aire expulsado de las cabinas de seguridad, si se filtra a través de filtros HEPA, se podrá expulsar al exterior por el conducto de evacuación general. Si no es así, debe hacerse pasar a través de los filtros principales de tratamiento de aire antes de expulsarse al exterior. Deben tomarse precauciones durante el cambio de los filtros, llevando a cabo su descontaminación previa y empleando ropa de protección.

La descontaminación por el calor o con una solución descontaminante de eficacia comprobada es obligatoria para todos los efluentes líquidos: lavabo, aseo, ducha, sifón del WC y condensaciones del autoclave, que debe ser de doble puerta.

Conducta del personal

El acceso a los locales estará restringido únicamente al personal autorizado por el director, oída la opinión del servicio médico, informando de los riesgos, así como la manera como debe protegerse.

El personal entrará y saldrá por el compartimento estanco del vestuario. La ropa de calle se quitará en la zona limpia y se colocará ropa de trabajo completa (guarda polvo, pantalón, camisa, calzado y guantes) al entrar al animalario. A la salida, esta ropa se quitará y se dejará en la zona de espera del animalario. Será obligatorio ducharse antes de ponerse la ropa de calle de nuevo.

Será obligatoria una vigilancia médica especial para las personas que trabajan o que tienen acceso a la unidad animal, creándose una seroteca de dicho personal.

Deberán dictarse normas muy detalladas de la conducta que se debe seguir ante situaciones de emergencia (evasión de un animal, conato de incendio, fugas, vertidos, etc.). El personal de la unidad animal deberá ser informado sobre el cumplimiento de estas normas.

Alojamiento de los animales

Los animales infectados deben ser mantenidos en las cabinas de confinamiento de clase III, dentro de salas en depresión o dentro de los dispositivos de confinamiento parcial, ventilados por una corriente de aire ascendente filtrada a través de filtros HEPA.

Los cadáveres, partes del cuerpo y otros residuos anatómicos, camas de estabulación o cualquier material contaminado, procedente de animales que hayan estado inoculados con agentes biológicos grupo 4, se eliminarán como residuo sanitario específico o de riesgo, grupo III.

Bibliografía

(1) INSTITUTO NACIONAL DE SEGURIDAD E HIGIENE
Notas Técnicas de Prevención (372, 376).
INSHT, Barcelona, 1997.

(2) MARTÍ SOLÉ, M.C., ET AL.
Prevención de riesgos biológicos en laboratorios
INSHT, Madrid, 1997.

(3) ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD
Manual de bioseguridad en el laboratorio.
OMS, Ginebra, 1983.

(4) SIMONS, J., SOTTY, P.
Risques biologiques
INSERM, París, 1991

(5) REAL DECRETO 223/1988 de 14-3 (M. Agricultura, Pesca y Alimentación, B.O.E. 18 3 1988).

Protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos.

(6) INSTRUMENTO de 2.8.1989 (Jef. Estado, B.O.E. 18.10.1989).

Ratificación del Convenio Europeo sobre protección de los animales vertebrados utilizados con fines experimentales y otros fines científicos, hecho en Estrasburgo el 18.3.1986.

(7) ORDEN de 3.10.1989 (M. Agricultura, Pesca y Alimentación, B.O.E. 18 10 1989).

Establece las normas de registro de los establecimientos de cría, suministradores y usuarios de animales de experimentación de titularidad estatal, así como las de autorizaciones para el empleo de animales en experimentos, en desarrollo del R.D 223/1988.

(8) **REAL DECRETO 664/1997** de 12 5 (M. de la Presidencia, B.O.E. 24 5 1997

Sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo.

(9) **ORDEN de 25 de marzo** (M. de Trabajo y Asuntos Sociales, B.O.E. 30 3 1998).

Por la que se adapta al progreso técnico el Real Decreto 664/1997 de 12 de mayo, sobre protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo.