



CICUAL- UNT

COMITÉ INSTITUCIONAL PARA CUIDADO Y USO DE ANIMALES DE LABORATORIO

San Miguel de Tucumán, 14 de Agosto de 2019

Dra.
Nancy Roxana Vera
Presente

Ref. Protocolo de Investigación: 012/18

De nuestra mayor consideración:

Tenemos el agrado de dirigirnos a Usted con el fin de informarle que el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de la Universidad Nacional de Tucumán (CICUAL-UNT) ha aprobado la realización del proyecto de investigación en referencia.

Este comité aprueba la versión 2 del Formulario con el protocolo experimental del proyecto **Bioprospección de moléculas con potencial terapéutico a partir fuentes naturales de composición química compleja**, enviada por Usted con fecha 12/09/18 ppdo.

Este documento aprobado deberá ser usado para conducir la investigación en el ámbito de la UNT. Se adjunta dictamen.

Sin otro particular, saludamos a Usted atentamente.

Amber
p/ CICUAL-UNT



CICUAL- UNT

COMITÉ INSTITUCIONAL PARA CUIDADO Y USO DE ANIMALES DE LABORATORIO

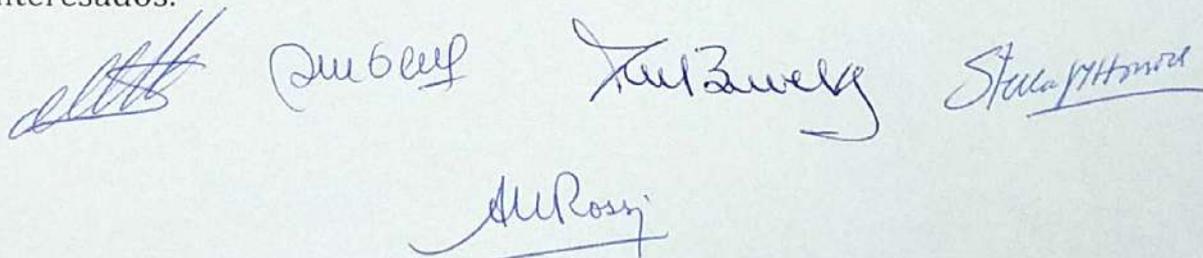
Dictamen

A los catorce días del mes de Agosto del año 2019, el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de la Universidad Nacional de Tucumán (CICUAL-UNT) realizó la evaluación del protocolo de investigación N° 012/18, titulado **“Bioprospección de moléculas con potencial terapéutico a partir fuentes naturales de composición química compleja”** y que fuera presentado por la Dra. Nancy Roxana Vera

Luego de un exhaustivo análisis de los antecedentes del protocolo de investigación, el CICUAL -UNT considera que el desarrollo del proyecto de investigación se ajusta a las normas nacionales e internacionales vigentes para el cuidado y uso de animales de laboratorio. Los documentos aprobados deben ser usados para conducir la investigación.

Por lo tanto, el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de la Universidad Nacional de Tucumán, decide la aprobación de la versión corregida del proyecto de investigación mencionado, por unanimidad.

Se firma la presente acta de conformidad por parte de los miembros presentes, sirviendo la presente como notificación suficiente de los interesados.



PROCOLO 012/2018-CICUAL-UNT-----Aprobado Agosto 2019

**COMITÉ INSTITUCIONAL DE CUIDADO Y USO DE
ANIMALES DE LABORATORIO
CICUAL – UNT**

Formulario para la evaluación de actividades en investigación, transferencia y/o docencia que involucre el manejo de animales de laboratorio

IMPORTANTE:

Este formulario tiene carácter de declaración jurada, y deberá ser completado en todos sus puntos, presentado en la Secretaría de Ciencia, Arte e Innovación Tecnológica de la UNT (SCAYT), y aprobado por el CICUAL-UNT como condición indispensable para la aprobación de todo protocolo que involucre el uso de animales de experimentación (esto incluye servicios, docencia, estudios pilotos, trabajos de tesis y tesinas de la Secretaría de Posgrado, llamados a concurso de becas, llamados a proyectos del MINCYT u otra entidad oficial que así lo requiera, etc).

Su uso deberá cumplir los siguientes requisitos:

1. Se presentará en forma impresa en la Secretaría de Ciencia, Arte e Innovación Tecnológica de la UNT, acompañado del correspondiente proyecto que avale los datos volcados en la planilla.

2. Una copia completa de la documentación presentada deberá ser remitida en formato digital a: cicual-unt@ct.unt.edu.ar

1-DATOS DEL INVESTIGADOR/PROFESOR RESPONSABLE:

Laboratorio, Servicio / Asignatura, Carrera, Facultad: Cátedra de Farmacoquímica, Instituto de Estudios Farmacológicos Dr. Sampietro, Facultad de Bioquímica Química y Farmacia. UNT.

Nombre y Apellido : Dra. Nancy Roxana Vera

Lugar de Trabajo: Instituto de Estudios Farmacológicos Dr. Antonio Sampietro, Facultad de Bioquímica Química y Farmacia. UNT.

Cargo / Función: Profesor Titular Full time

Teléfono Particular: (381) 4247752 int: 7072

Teléfono Celular: (381) 4414977

e-mail: veranr@gmail.com; nrvera@fbqf.unt.edu.ar

Nombre del Responsable alternativo del Proyecto: Dr. Marcos Adrian Reynoso
email del Responsable alternativo del Proyecto: mareynosofbqf@ hotmail.com

2- DATOS DEL PROYECTO

Título del Proyecto /Nombre de la Asignatura, Carrera, Facultad:

Bioprospección de moléculas con potencial terapéutico a partir fuentes naturales de composición química compleja

Objetivos del Proyecto / Asignatura:

- 1) Caracterizar, separar, purificar e identificar los constituyentes presentes en los extractos y/o fracciones que justifiquen las propiedades biológicas validadas científicamente por nuestro grupo de trabajo.
- 2) Biodirigir el aislamiento químico de los productos naturales mencionados en el objetivo específico 1, teniendo en cuenta las propiedades farmacológicas de los extractos demostradas por nuestro grupo de trabajo (actividad analgésica, antiinflamatoria, antitusiva, expectorante, diurética e inhibidora de la ECA).
- 3) Evaluar la inocuidad o toxicidad con modelos animales de los productos naturales mencionados en el objetivo específico 1.
- 4) Iniciar el diseño y preparación de formulaciones tópicas.

Duración del Experimento: _____ 3 años _____

Fecha probable de inicio: _____ 01 / 01 /2019 _____

Organismo/s financiadores: Agencia _____

Investigador/es Responsable/s ante el CICUAL: Dra. Nancy Vera – Dr. Marcos Reynoso_

Solicita este aval para la presentación de:

- Beca
- Tesis
- Proyecto de Investigación
- Docencia
- Otros (Especificar)

-Si eligió docencia sólo completar los puntos 3, 4, 5, 6,7, 8

3- INTEGRANTES QUE PARTICIPAN EN EL PROYECTO DE INVESTIGACION / INTEGRANTES DE LA ASIGNATURA QUE PARTICIPAN EN EL DICTADO DE TRABAJOS PRACTICOS CON ANIMALES:

Nombre y Apellido	Lugar de Trabajo	Cargo/Función	Categoría*	Firma
-------------------	------------------	---------------	------------	-------

Dra. Nancy Roxana Vera	Cátedra de Farmacoquímica, Facultad de Bioquímica (UNT)	Prof. Asociado full-time	A - B	
Dr. Marcos Adrián Reynoso	Cátedra de Farmacodinamia, Facultad de Bioquímica (UNT)	JTP - semidedicación	A - B	
Esp. Isabel Patricia Rojas	Cátedra de Farmacoquímica, Facultad de Bioquímica (UNT)	JTP - semidedicación	B	
Mag. María Elizabeth Balderrama Coca	Cátedra de Farmacoquímica, Facultad de Bioquímica (UNT)	JTP - semidedicación	B	
Mag. Nancy L. Correa	Cátedra de Toxicología Facultad de Bioquímica (UNT)	JTP - semidedicación	B	
Farm. Josefina Villagra	Cátedra de Farmacoquímica, Facultad de Bioquímica (UNT)	Aux. de 1° categoría Dedicación simple	B	
Lic. Yanina Brodkiewics	Cátedra de Farmacoquímica, Facultad de Bioquímica (UNT)	Tesista	B	
Farm. Rodrigo Mettola	Cátedra de Farmacoquímica, Facultad de Bioquímica (UNT)	Tesista	B	
Médica Veterinaria Lucia Marcinkevicius	Cátedra de Farmacoquímica, Facultad de Bioquímica (UNT)	Investigador	B	
Bioq. Myrna Sader	Cátedra de Farmacoquímica, Facultad de Bioquímica (UNT)	Investigador	B	

*Categoría según el anexo II del Reglamento CICUAL-UNT, "Guía de Educación y entrenamiento de las personas que trabajan con animales de laboratorio", de la Federación Europea de Asociaciones de Ciencia de animales de laboratorio (FELASA).

El investigador responsable deberá acreditar formación en el uso y cuidado de los animales de experimentación, acreditando ante el CICUAL-UNT categoría C o más alta.

El investigador responsable se compromete a garantizar el respeto de las normas de tratamiento humanitario de animales de laboratorio por parte de los integrantes del equipo, incluyendo la supervisión cercana del trabajo en animales de los integrantes sin formación previa en el tema.

4- IDENTIFICACIÓN DE LOS ANIMALES REQUERIDOS (Completar y/o Indicar con **x** lo correcto):

Especie: *Rattus norvegicus* – línea Wistar.....

Cepa: Wistar.....

Sexo: Macho y/o Hembra.....

Edad o peso:..200 a 350 g.....

Origen de los animales:

- Granja
- Criadero
- Bioterio
- Producción propia
- Otro:

Tipo de contención utilizada para el transporte

- Jaula
- Caja
- Canil
- Gatil
- Trailer
- Camión

Tipo de transporte:

- Privado
- Oficial

Duración del transporte:

- Menos de 2 horas
- De 2 a 6 horas
- Mas de 6 horas

Distancia recorrida:

- Menos de 50 km
- De 50 a 100 km
- De 100 a 400 km

Más de 400 km

Densidad de transporte (animales por m²):

Tiempo de adaptación a las instalaciones experimentales previo al inicio de la experiencia: ...de 1 a 2 semanas.....

5- JUSTIFICAR EL USO DEL MODELO ANIMAL FRENTE A MÉTODOS ALTERNATIVOS IN VITRO considerando las 3R (Reducción del número de animales, Refinamiento de la técnica y Reemplazo de animales por otras técnicas)

¿Consideró otras alternativas a los procedimientos que puedan causar dolor o sufrimiento que no sean leves o momentáneos? **Si** **o** **No**

Especificar:

Sí se buscaron alternativas a los procedimientos que pueden causar dolor o sufrimiento, sin encontrar técnicas in-vitro que reemplacen o reproduzcan los ensayos para el análisis de drogas antinociceptivas, diuréticas, antitusivas y expectorantes.

En cuanto a las pruebas de actividad antiinflamatoria existen ensayos in vitro para evaluar inhibición de enzimas proinflamatorias, que nos permitirían reducir el número de animales a utilizar durante el screenig de potenciales drogas antiinflamatorias. Sin embargo, los ensayos con animales de experimentación resultan imprescindibles para la validación de efectos farmacológicos, dado que nos permite medir **eficacia** y **seguridad**.

6- ALOJAMIENTO DE LOS ANIMALES DURANTE EL DESARROLLO DEL PROTOCOLO EXPERIMENTAL (Marcar con una x lo que corresponda):

a) Tipo de alojamiento: Transitorio (0-24 hs) Prolongado (mayor a 48 hs)

b) Lugar del alojamiento (indicar dirección):

Bioterio

Laboratorio

Habitación

Otro (especificar)

Comparte el animal la habitación con otras especies? **Si** **o** **No..**

Especificar tamaño de habitación y nº de jaulas por habitación:

Habitación de 16 m², 20 jaulas x habitación

c) Condiciones de mantenimiento de los animales durante el desarrollo del protocolo de trabajo (completar si será por periodo prolongado):

Tipo de habitáculo (caja, jaula, canil, etc)

Tamaño del habitáculo

Densidad por habitáculo (m²/animal)

Descripción del habitáculo

Jaula
40 cm x 30 cm x 20 cm
4 animales x jaula
Jaula metalica con patas

Tipo de Cama (viruta, base de alambre, u otro)	y bodejas removible
Ventilación (Inyección/Extracción)?	Base de alambre
Temperatura (indicar rango)	Inyección / extracción de aire
Mecanismo de regulación y/o control de temperatura que usará	23 ± 1 °C
Iluminación: especificar tipo luz usada	Aire acondicionado
Fotoperiodo luz- oscuridad	Luz artificial fluorecente
	12 – 12 hs
Tipo de alimento (balanceado, dieta formulada, otro)	Alimento estándar para roedores, obtenido de fuente comercial
Racionamiento de dieta/día/animal:	Ad libitum
Agua de bebida (<i>Ad libitum</i> , restringida, otro):	Ad libitum

d) Especificar las condiciones de alojamiento, mantenimiento, alimentación, cuidados veterinarios, etc. Descríbalas:

Los animales fueron obtenidos del Bioterio del Instituto Superior de Investigaciones Biológicas (INSIBIO), Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia. Los animales fueron mantenidos bajo normas establecidas de humedad, temperatura (25 ± 1°C), ciclos de luz (12 horas) y oscuridad (12 horas), y acceso libre al alimento y al agua. Fueron alimentadas con una dieta estándar para roedores provista por la Asociación de Cooperativas Argentinas- SENASA N° 2706. La médica veterinaria integrante del proyecto realizará visitas periódicas para valorar el estado de salud de los animales.

7- PROCEDIMIENTO:

Total de Animales empleado (*Indique con números*)

Número de grupos experimentales

Número de animales por grupo experimental

a) Tipo de procedimiento: Terminal Crónico Agudo

b) **Procedimientos invasivos** Si No

En caso afirmativo especifique

Tipo: Administración de drogas por vía intraperitoneal, subplantar, subcutánea y tópica.

Duración: de 0,5 a 6 hs.....

Frecuencia: 1 x semana.....

Efectos clínicos esperados: respuesta a estímulos dolorosos, inflamatorios, tusígenos y estimulantes de diuresis.

c) Diseño experimental (*marcar con una X lo que corresponda*):

Método

- | | |
|---|----------------------------|
| Restricción de alimento | <input type="checkbox"/> |
| Restricción de agua | <input type="checkbox"/> |
| Procedimiento de cirugía c/ recuperación del animal | X <input type="checkbox"/> |
| Procedimiento de cirugía s/ recuperación del animal | X <input type="checkbox"/> |
| Catéter, intubación | <input type="checkbox"/> |
| Modificación de la conducta | X <input type="checkbox"/> |
| Restricción de movimiento por más de 4 hs | <input type="checkbox"/> |
| Inoculación de microorganismos | <input type="checkbox"/> |
| Estudios de DL50 | <input type="checkbox"/> |
| Toxicidad Aguda | X <input type="checkbox"/> |
| Toxicidad Subcrónica | X <input type="checkbox"/> |
| Toxicidad Crónica | <input type="checkbox"/> |
| Producción de anticuerpos monoclonales | <input type="checkbox"/> |
| Producción de anticuerpos policlonales | <input type="checkbox"/> |
| Extracción de sangre c/recuperación del animal** | <input type="checkbox"/> |
| Extracción de sangre s/recuperación del animal | X <input type="checkbox"/> |
| Extracción tejidos/órganos/ (total o parcial) c/recuperación*** | <input type="checkbox"/> |
| Extracción tejidos/órganos/ (total o parcial) s/recuperación | X <input type="checkbox"/> |

**** En caso de respuesta afirmativa completar:**

- a- Fase o etapa del Protocolo experimental:
- b- Sitio anatómico de la toma de muestra:
- c- Cantidad a extraer (ml):

***** En caso de respuesta afirmativa completar:**

- a- Fase o etapa del Protocolo experimental:
- b- Tejido a extraer:
- c- Cantidad de tejido a extraer (g):

[Anexo: Extracción de sangre](#)

[Anexo: Técnicas obtención e inoculación de muestras](#)

Si se basó en otra fuente de información especifique:

Describe en forma breve los procedimientos experimentales que serán realizados en los animales y con qué frecuencia:

ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA:

Para evaluar el efecto antinociceptivo de nuevos fármacos, se utilizarán tres modelos experimentales: Ensayo de la formalina, ensayo de la inmersión de la cola y contorsiones abdominales inducidas por ácido acético.

El test de la formalina está validado por múltiples estudios reuniendo además la mayor parte de los requerimientos éticos, lo que hace del mismo un modelo animal de dolor muy utilizado en investigación. Para el ensayo se administra, por vía oral, las drogas de referencia y los extractos a estudiar y después de treinta minutos de iniciado el tratamiento se inyecta en la pata trasera de cada animal 50 µl de una solución de formalina al 2,5 %, observándose durante treinta minutos una serie de respuestas dolorosas. El modelo es fácilmente cuantificable, cronometrando el tiempo en que el animal se lamió la pata inyectada, como máxima respuesta de dolor (Gorzalczany et al 2011).

El test de inmersión de la cola, es probablemente el modelo de analgesiometría más universalmente utilizado y constituye un reflejo espinal. La técnica consiste en la inmersión de 3 cm del extremo de la cola de la rata en un baño de agua termostatzado, a una temperatura de $55 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Se registra con un cronómetro el "tiempo de reacción", o sea el tiempo que tarda el animal en retirar la cola del baño (Aydin et al 1999 y Daud et al 2006).

En el test de las contorsiones abdominales, el dolor es inducido mediante la inyección de una solución de ácido acético (0,75 %, 0,1 ml/10 g de peso corporal) en la cavidad peritoneal. Los animales son colocados en una caja de plástico transparente para su observación. El resultado de este experimento se mide mediante el número de retorcionones contados durante una observación continua de 20 minutos, después de 5 minutos de realizada la inyección de ácido acético (Zimmerman, M., 1983).

ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA IN VIVO

La actividad antiinflamatoria será evaluada mediante dos modelos biológicos de inflamación (aguda y crónica).

TEST DE INDUCCIÓN DEL EDEMA CON CARRAGENINA: Este test es utilizado para evaluar la actividad antiinflamatoria en un modelo de inflamación aguda. El edema será inducido con una inyección de carragenina (0,1 ml al 1,5 %) en la región subplantar de la pata derecha de las ratas y se evalúa al animal durante 5 horas (Winter et al 1962).

GRANULOMA INDUCIDO POR DISCOS DE ALGODÓN: Para inducir la Inflamación crónica en ratas, discos de algodón de 20 ± 1 mg de peso son implantados subcutáneamente y de manera bilateral en la región escapular de cada animal, previa inducción de la anestesia con

isofluorano, luego se sutura la herida y se realiza prevención de la sepsis posquirúrgica mediante la aplicación tópica de iodopovidona.

Los animales son distribuidos en grupos y reciben durante siete días consecutivos por vía oral: las drogas a ensayar. Luego de 24 de la última administración los animales son sacrificados en cámara de CO₂ y se realiza la extracción de los granulomas formados y el timo de cada animal (Pingsusaen et al 2015).

Actividad ANTITUSIVA

La actividad antitusiva se investiga en un clásico modelo de tos inducida por solución de amoníaco y de ácido cítrico. Los extractos y las drogas de referencias son administrados por vía oral en una dosis diaria, durante 3 días. Después de 30 minutos de la última administración oral, cada rata se coloca en una cámara de vidrio y es expuesta a 0,3 ml de una solución del agente tusígeno durante 45 segundos. El animal es retirado de la cámara y monitoreado durante 6 minutos. La frecuencia de la tos y su período de latencia son registrados durante dicho periodo (Liu et al., 2009 y Shang et al., 2010).

ACTIVIDAD EXPECTORANTE

En este ensayo farmacológico, se utiliza el método de coloración con rojo fenol de la secreción traqueobronquial en ratas. Los tratamientos son llevados a cabo por vía oral en una dosis diaria, durante 3 días. Después de 30 minutos de la última administración oral, se inyecta por vía intraperitoneal rojo fenol al 5% en solución salina (500 mg / kg). Pasado los 30 minutos de la administración del colorante se sacrifican los animales con una sobredosis de ketamina y se procede a la disección de las tráqueas. La excreción de rojo de fenol del contenido traqueal se determina mediante una curva estándar de calibración de rojo fenol (Liu et al., 2009).

ACTIVIDAD DIURÉTICA AGUDA

Las muestras se administrarán por vía oral. Cada animal es colocado en las jaulas metabólicas, 24 h antes del inicio del experimento para la adaptación

Los animales se dividen en grupos. Las muestras de orina se recogen después de 5 h y 24 h del tratamiento. Después de medir el volumen urinario, las muestras se filtran y, se almacenan a -20 °C para el análisis de los electrolitos.

ESTUDIO DE TOXICIDAD AGUDA:

La toxicidad aguda se lleva a cabo en ratas Wistar, distribuidas aleatoriamente en grupos de 5 animales cada uno. Los animales tienen libre acceso al agua y al alimento y son observados por períodos de 2, 4, 6, 24 y 48 horas luego de la administración de las muestras en una única dosis supratrapéutica por vía oral. Para analizar los cambios que podrían experimentar los animales durante este período de intoxicación aguda se realizan observaciones macroscópicas directas que permiten poner en evidencia modificaciones que se pueden presentar en el pelaje, ojos, mucosas, respiración, comportamiento, peso y sobrevida al final del período experimental. A las 48 horas los animales son sacrificados bajo anestesia (inyección intraperitoneal de ketamina) y se realiza el análisis macroscópico de los órganos (Daud et al., 2010).

ESTUDIO DE TOXICIDAD SUB-CRONICA:

Las ratas son tratadas, vía oral, durante 13 semanas con las drogas a ensayar. Las ratas tienen libre acceso al agua y al alimento.

Se registran lecturas iniciales y semanales de sus pesos para evaluar la ganancia o pérdida del mismo. Al final de las 13 semanas del ensayo, todos los animales se anestesian con una inyección intraperitoneal de Ketamina / Acepromacina, las muestras de sangre se recogieron a través de punción cardiaca y son transferidas a tubos heparinizados y no heparinizados para su análisis bioquímico y hematológico respectivamente. Las ratas son sacrificadas con sobredosis de ketamina y se disecan pulmón, bazo, corazón, hígado, páncreas y riñones. Los órganos son observados macroscópicamente in situ, basándose en la posición, color, forma, tamaño, peso y consistencia y reservados para su posterior análisis microscópico (Mukinda y Syce, 2007).

TOXICIDAD DÉRMICA AGUDA Y SUBAGUDA

OECD, 2017. OECD Guideline for Testing of Chemicals: Acute Dermal Toxicity-Fixed Dose Procedure (No.402).

La piel en el área dorsal torácica de las ratas se rasura bajo anestesia general con ketamina (50 mg / kg) usando una maquinilla eléctrica, seguido de afeitado manual con hoja de afeitar. De acuerdo con los lineamientos 402 de la OCDE, no menos del 10% de la superficie corporal fue despejada para la aplicación de la sustancia de prueba. El extracto se aplicó al área del dorso. El producto a ensayar se administra a animales individuales de manera secuencial con dos animales utilizados en cualquier nivel de dosis seleccionado en el estudio principal. En general, si se requiere un estudio de toxicidad cutánea aguda porque no se aplican los criterios de exención, la toxicidad cutánea aguda esperada probablemente será desconocida o alta (por ejemplo, LD50 <200 mg / kg de peso corporal). Cuando no hay información o es insuficiente sobre el producto a ensayar, se recomienda un estudio de búsqueda de rango de dosis con 1 animal a una dosis inicial de 200 mg / kg de peso corporal para minimizar el uso de animales y optimizar el diseño del estudio (ver flujo del Anexo 2 tabla para estudio de búsqueda de rango). Según el resultado del estudio de búsqueda de rango, el estudio principal se puede realizar con 2 animales adicionales para confirmar el resultado de la clasificación, siguiendo el procedimiento descrito en el diagrama de flujo del Anexo 2 para el estudio principal. Este enfoque está respaldado por una evaluación biométrica (Mielke et al., 2017) que se realizó para comparar varios diseños de estudio con sus respectivas predicciones de clasificación. Esto es para garantizar la confianza en el diseño de estudio recomendado donde solo se necesitan dos animales en el estudio principal para generar la clasificación correcta.

Se permitirá un período de al menos 48 horas entre las pruebas de cada animal, aunque esto dependerá del inicio, la duración y la gravedad de los signos tóxicos. El tratamiento de los animales en el siguiente nivel de dosis debe retrasarse hasta que uno esté seguro de la supervivencia de los animales dosificados previamente. Todos los animales deben observarse normalmente durante al menos 14 días.

*Detalle: **grupos de experimentación, cantidad de animales por grupo, tipo de diseño (al azar, cruzado, etc.). Describa en detalle el procedimiento incluyendo la siguiente información, **Tipo de inmovilización utilizada (física, química, método, duración), procedimientos no invasivos, si los tuviese*****

(tipo, duración, frecuencia, efectos clínicos esperados), **procedimientos invasivos**, si los tuviese (tipo, duración, frecuencia, efectos clínicos esperados), **privaciones**, si las tuviese (tipo, duración, frecuencia, efectos clínicos esperados), **administración de agentes químicos y/o biológicos** (agente, dosis, vía de administración, frecuencia, efectos clínicos esperados), **manejo post operatorio y otra/s maniobra/s** que no están comprendidas en los ítems anteriores y considere importante aclarar).

8-ADMINISTRACIÓN DE AGENTES QUÍMICOS Y/O BIOLÓGICOS DURANTE EL DESARROLLO DEL PROTOCOLO EXPERIMENTAL (Completar donde corresponda):

	Nombre	Dosis	Vía de administración	Frecuencia
Anestésicos	Pentobarbital sódico Difenilhidantoina sodica	40 mg/kg 5 mg/kg	Intraperitoneal	1 vez
Analgésicos	Ibuprofeno Morfina	100 mg/kg 1 mg/kg	Vía oral	1 x día
Sedantes	Ketamina Acepromacina	50 mg/kg - 2,5 mg/kg	Intraperitoneal	1 vez
Sustancia a estudiar	Productos naturales	200 a 1000 mg/kg	Vía oral / Intraperitoneal/tópica	1 x día
Agentes químico	1- Formalina 2- Ácido acético 3- carragenina	1- 50 µl solución de formalina al 2,5 % 2- 0,1 ml/10 g 3- 0,1 ml al 1,5%	1- Subcutánea 2- Intraperitoneal 3- Subcutánea	única vez
Otros	Disco de algodón	20 mg	Subcutánea	única vez

9- PUNTO FINAL HUMANITARIO: Indique los criterios a emplear

a- Eutanasia: SI NO

Si su respuesta fue afirmativa indique el método empleado y el responsable/s de realizar el procedimiento de eutanasia:

El método empleado será cámara de CO₂ o Euthanyle (pentobarbital sódico/difenilhidantoina sódica)
Responsables:
Méd. Vet. Lucia Marcinkevicius
Dra. Nancy Vera
Dr. Marcos Adrián Reynoso

b- Residuos Patológicos
Freezer X (luego son retirados por la empresa 9 de Julio)

Incineración

Otros

c- Destino de los animales no sometidos a eutanasia:

10- EXISTE RIESGO POTENCIAL: SI X NO

En caso afirmativo indique:

a) El riesgo afecta: al Personal X Animales Ambiente X

b) Tipo de riesgo: Químico X Biológico x Radiactivo Cancerígeno

Otros (detalle)

Indique que medidas de protección deben tomarse para la salud de los trabajadores

Medidas de bioseguridad generales:

- Uso de delantal
- Uso de guantes, barbijo, cofia y antiparras de seguridad
- Vacuna antitetánica
- No trabajar nunca solo
- Uso de desinfectantes para lugar de trabajo

11- Referencias

Aydin S., Demir T., Ozturk Y., Baser K.H.C..Analgesic activity of Nepetaitalica L. Phytotherapy Research 13, 20–23.1999.

Daud A., Habib N., Sánchez Riera A., 2006. Antiinflammatory, antinociceptive and antipyretic effects of extracts of Phrygilanthus acutifolius flowers. Journal of Ethnopharmacology 108, 198–203.

Daud, A., Reynoso, M., Habib, N., Sanchez Riera, A., 2010. Antioxidant activity and acute oral toxicity of Phrygilanthus acutifolius flowers. Lat. Am. J. Pharm. 29, 783-788.

Gozalczany, Susana, Rojo Anibal, Rondinaz, Rubén, Debenedetti, Silvia y Acevedo, Cristina. 1999. Estudio de Toxicidad Aguda por Vía Oral de Plantas Medicinales Argentinas. Acta Farmaceutica Bonaerense 18 (3): 221-4.

Liu, L.H., Wang, L.S., Liu, X.M. (2009). Comparison of antitussive, expectorant and antiasthmatic activities of different extracts from Ficusmicrocarpa. Journal of Medicinal Plants Research, 3 (8), 596-99.

Mielke H., Strickland J., Jacobs M.N., Mehta J.M. (2017) Biometrical Evaluation of the Performance of the Revised Test Guideline 402 for Assessing Acute Dermal Toxicity. In press.

Regulatory Toxicology and Pharmacology.

Mukinda J.T. and Syce J.A., 2007. Acute and chronic toxicity of the aqueous extract of Artemisia afra in rodents. Journal of Ethnopharmacology. 112, 138–144.

OECD, 2017. OECD Guideline for Testing of Chemicals: Acute Dermal Toxicity-Fixed Dose Procedure (No.402).

Shang, J.H., Cai, X.H., Zhao, Y.L., Feng, T., Luo, X.D. (2010) Pharmacological evaluation of Alstoniascholaris: Anti-tussive, anti-asthmatic and expectorant activities. Journal of Ethnopharmacology, 129, 293-98.

Winter, C.A., Risley, E.A., Nuss, G.W., 1962. Carrageenan-induced edema in hind paw of the rats as an assay of anti-inflammatory drugs. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 3, 544–547.

Zimmerman, M., 1983. Ethical guidelines for investigations on experimental pain in conscious animals. Pain 16, 109

La persona que firma en calidad de investigador responsable de este procedimiento, informa que: ha leído y completado este formulario y se compromete a cumplir y conducir su protocolo de investigación de acuerdo con los **principios éticos que de carácter humanitario** que se requieren en el uso de animales de experimentación. De igual forma se compromete a educar al personal a su cargo y exigirles el respeto de estos principios así como los aspectos relativos al cuidado y uso de animales de laboratorio que se manifiestan en la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (National Research Council. Octava Edición. National Academies Press, Washington DC, 2011 y/o Directiva de la Unión Europea 2010). Para animales de producción se deberá seguir la “Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Agricultural Research and Teaching (Federation of Animal Science Societies, Third Edition, 2010). Declara que cualquier modificación realizada al presente protocolo será remitida al CICUAL-UNT para su revisión antes de su aplicación.

Este formulario tiene carácter de Declaración Jurada y su violación conllevará la aplicación de sanciones. El CICUAL-UNT podrá concurrir a los bioterios correspondientes para corroborar que se cumpla con las condiciones declaradas en este formulario.

Firma

Aclaración

DNI

Lugar y fecha

Informe del CICUAL-UNT

Los formularios aprobados mantendrán su validez mientras no haya cambios en el proyecto correspondiente. En caso de haber modificaciones, éstas deberán ser informadas al CICUAL-UNT antes de su aplicación.

PARA USO DEL CICUAL-UNT

Titulo del Proyecto:

Dirigido por:

Aprobado para su realización: SI NO

Remitir para su corrección: SI NO

Fecha:

*Comentarios:

Miembros del CICUAL-UNT

FIRMAS

.....
.....
.....
.....

.....
.....
.....
.....