



UNIVERSITAT DE
BARCELONA



Revista de Bioética y Derecho

Perspectivas Bioéticas

www.bioeticayderecho.ub.edu - ISSN 1886-5887

DOSSIER BIOÉTICA Y ANIMALES NO HUMANOS EN INVESTIGACIÓN

¿Existen alternativas a los experimentos con animales?

Are there alternatives to animal experimentation?

Existeixen alternatives als experiments amb animals?

MARÍA PILAR VINARDELL MARTINEZ-HIDALGO *

* María Pilar Vinardell Martínez-Hidalgo. Catedrática de Fisiología, Universitat de Barcelona (España). Email: mpvinardellmh@ub.edu.

El XIV Seminario Internacional sobre la Declaración Universal sobre Bioética y Derechos Humanos de la UNESCO, que dio origen a este dossier monográfico, forma parte de las actividades del proyecto “El Convenio de Oviedo cumple 20 años: Propuestas para su adaptación a la nueva realidad social y científica” (DER2017-85174-P), financiado por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades de España.



Copyright (c) 2021 María Pilar Vinardell Martínez-Hidalgo
Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional.

Resumen

Desde hace muchos siglos el ser humano ha venido utilizando los animales para el conocimiento científico y gracias a estos animales se ha avanzado mucho en el desarrollo de terapias, cirugías, etc. Pero actualmente se sabe que no todos los ensayos que se realizan con animales acaban dando lugar a nuevos tratamientos de interés clínico. A pesar de que algunas estadísticas apuntan a una disminución del número de animales utilizados en investigación, la realidad es que todavía se continúan utilizando muchos animales e incluso está aumentando el uso de animales genéticamente modificados. Cuando un investigador se plantea un proyecto en el que se utilicen animales debe buscar alternativas que los reemplacen, reducir el número utilizado y refinar las técnicas para disminuir el sufrimiento animal. En la práctica, muchos investigadores no realizan una búsqueda concienzuda y lo justifican diciendo que no existen alternativas a sus experimentos y que es necesario el uso de animales. En este artículo se presenta cómo realizar esta búsqueda y ejemplos de métodos alternativos de reemplazo, para que no haya excusas a cambiar las metodologías empleadas.

Palabras clave: reducción; refinamiento; reemplazo; búsqueda bibliográfica; animales de experimentación.

Abstract

For many centuries, humanity has been using animals for scientific knowledge and thanks to these animals much progress has been made in the development of therapies, surgery, etc. But it is known that not all trials carried out on animals end up leading to new treatments of clinical interest. Despite this, many laboratory animals continue to be used, although some statistics point to a decrease in the number of animals. Moreover, there is an increase in the use of genetically modified animals. When a researcher considers a project in which animals are used, they should look for alternatives that replace animals, reduce the number used and refine techniques to reduce animal suffering. In practice, many researchers do not conduct a thorough search and justify it by saying that there are no alternatives to their experiments and animals are necessary. This article presents how to perform this search and examples of alternatives of replacement, so that there are no excuses to change the methodologies used.

Keywords: Reduction; refinement; replacement; literature search; laboratory animals.

Resum

Des de fa molts segles l'esser humà ha vingut utilitzant els animals per al coneixement científic i gràcies a aquests animals s'ha avançat molt en el desenvolupament de teràpies, cirurgia, etc. Però se sap que no tots els assajos que es realitzen amb animals acaben donant lloc a nous tractaments d'interès clínic. Tot i que algunes estadístiques apunten a una disminució del nombre d'animals en experimentació, la realitat es que encara es continuen utilitzant molts animals i inclús esta augmentant l'ús d'animals genèticament modificats. Quan un investigador es planteja un projecte en el qual s'utilitzin animals ha de buscar alternatives que els reemplacin, reduir el número utilitzat i refinar les tècniques per a disminuir el sofriment animal. A la pràctica, molts investigadors no realitzen una cerca conscienciosa i ho justifiquen dient que no existeixen alternatives als seus experiments i que és necessari l'ús d'animals. En aquest article es presenta com realitzar aquesta cerca i exemples de mètodes alternatius de reemplaçament, perquè no hi hagi excuses a canviar les metodologies emprades.

Paraules clau: reducció; refinament; reemplaçament; cerca bibliográfica; animals d'experimentació.

1. Introducción

El uso de animales en investigación biomédica ha existido desde la Antigüedad, y los conocimientos científicos se basaban en buena parte en la observación y la disección anatómica. Hipócrates (350 a.C) ya realizaba experimentos con cerdos. Otros como Anaxágoras, Aristóteles, Galeno y muchos más disecaron animales para conocer su cuerpo. A diferencia de Oriente, la “vivisección” no se empieza a practicar en Occidente hasta el Renacimiento. En Europa, René Descartes (1596-1650) sentó las bases del dualismo cuerpo-alma, con el ser humano siendo poseedor de ambas dimensiones y, por lo tanto, erigiéndose superior a los animales. En esta filosofía cartesiana sólo el hombre era consciente y podría sufrir, a diferencia de los animales, que según él eran incapaces de sentir dolor. La vivisección se extendió por Europa sin ningún tipo de anestesia¹, y se desarrolló sobre todo a partir del siglo XVII. Entre los científicos de esa época hay que destacar a W. Harvey (1578-1657) que fue el primero en describir y explicar cómo circula y se distribuye la sangre en el organismo². Ya en el siglo XIX el fisiólogo C. Bernard (1813-1878) se hizo conocido como el padre de la vivisección, técnica en la que formó a numerosos discípulos. Su dedicación a estas prácticas era casi obsesiva, de manera que una vez que no tenía perros para sus investigaciones, utilizó al perro de la familia. Esto fue el detonante para que su esposa se separara de él y creara la primera sociedad anti-viviseccionista en Francia³. Maestro de Claude Bernard fue Mateu Roger Orfila (1787-1853) natural de Menorca y que se considera fundador de la Toxicología y que fue decano de la Facultad de Medicina en París. Fue un defensor a ultranza de la experimentación animal. Se calcula que durante su vida pudo haber experimentado con unos 5000 perros⁴. Estos constituyen unos pocos ejemplos de la gran cantidad de investigadores célebres que utilizaron la experimentación animal para sus descubrimientos.

2. Alternativas a la experimentación animal: el principio de las Tres Erres

El principio de las Tres Erres o métodos alternativos a la experimentación animal fue enunciado en 1959 por dos científicos británicos, Russell y Burch en su libro *Principles of Humane Experimental Technique* (1959). Postularon que para que los experimentos con animales se consideraran éticos o fueran aceptables, deberían seguir siempre el principio de las Tres Erres (Reemplazo, Reducción y Refinamiento). En primer lugar, se tiene que aplicar la Erre de reemplazo, que implica substituir los animales por otros sistemas, como por ejemplo el uso de cultivos celulares. Cuando el reemplazo no es posible, entonces es necesario aplicar las otras dos Erres: reducción del número de animales, pero siempre basado en un cálculo estadístico previo

del número de animales necesarios para que un determinado ensayo presente una significación estadística, o en una adecuada búsqueda bibliográfica. El refinamiento se refiere a la disminución del dolor infligido a los animales, mejorando las condiciones y técnicas en la realización del experimento⁵, así como el uso de anestesia. Las Tres Erres se conocen como métodos alternativos a la experimentación animal, lo que lleva a veces a confusión, pues muchos investigadores aún creen que se refiere al reemplazo de los animales de experimentación por otras técnicas que no los utilicen.

Sin embargo, debe reconocerse que la idea de mejorar el trato a los animales de laboratorio es mucho más antigua, ya que en 1831 el fisiólogo británico Marshall Hall estableció un postulado de cinco puntos sobre la experimentación animal. Primero, un experimento no debe realizarse si la información se puede obtener por simple observación; segundo, no se tendría que realizar ningún experimento sin unos objetivos bien definidos; tercero, los científicos deberían estar bien informados de los trabajos de otros investigadores para evitar repeticiones innecesarias; cuarto, los experimentos justificables se tendrían que hacer provocando el menor sufrimiento a los animales (por ejemplo utilizando animales menos sensibles) y quinto, todo experimento se debería realizar bajo aquellas circunstancias que proporcionen los resultados más claros y disminuyendo la repetición de experimentos.⁶

El libro de Russell y Burch quedó olvidado durante bastante tiempo y las Tres Erres se hicieron más populares en los años 70 cuando entró en debate la investigación animal, a partir del libro *Liberación Animal* del filósofo australiano Peter Singer publicado en 1975.⁷

En varios trabajos se ha cuestionado si las definiciones dadas por Russell y Burch coinciden con la concepción actual del principio de las Tres Erres⁸. Se ha concluido la importancia de recuperar el concepto de la contribución de las ciencias humanísticas y sociales en la mejora de la investigación con animales.⁹

3. Legislación sobre experimentación animal

En 1986 se adoptó la Directiva Europea EU 86/609 para la protección de los animales utilizados para experimentación¹⁰. En ella se establecían los estándares mínimos para garantizar el bienestar de los animales y la preparación del personal implicado en su cuidado y en su utilización. Esta Directiva se adoptó como ley en Cataluña en 1995.¹¹

A nivel español, la transposición de la Directiva se hizo como Real Decreto 1201/2005 de 10 de octubre, sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos¹². Este Real Decreto reguló, entre otros aspectos, las condiciones en que se podían

utilizar animales de experimentación, el registro de establecimientos de cría, suministradores y usuarios de animales de experimentación, los requisitos de las instalaciones y equipos de los mismos, tanto humanos, con especial hincapié en cual debía ser su formación, como materiales. Estableció asimismo la creación de Comités éticos de bienestar animal. Todos estos puntos se establecieron en Cataluña diez años antes que en el resto de España.

En 2010 el Parlamento Europeo decidió revisar dicha directiva y actualizarla al progreso de la ciencia y a las recomendaciones en cuanto a la protección de los animales utilizados en investigación y otras finalidades científicas. La nueva directiva fue presentada en noviembre de 2010 como directiva 2010/63EU que es la vigente actualmente y que todos los países han tenido que transponer a su legislación^{13,14}. En España se presentó como Real Decreto 53/2013¹⁵. En el mismo consta en el artículo 4 los principios de reemplazo, reducción y refinamiento. Con relación al reemplazo indica que “se utilizarán siempre que sea posible, en lugar de un procedimiento, métodos o estrategias de ensayo científicamente satisfactorios que no conlleven la utilización de animales vivos”.

Asimismo, en relación con las Tres Erres señala: “la administración General del Estado y los órganos competentes darán los pasos que consideren apropiados para fomentar la investigación en este campo y velarán por la promoción de los planteamientos alternativos y la difusión de la información sobre éstos a escala nacional”.

4. Promoción de las Tres Erres

La promoción de las Tres Erres en investigación no sólo aporta beneficios éticos por la eliminación de los animales o la mejora de su bienestar, minimizando el sufrimiento y el dolor infringidos; sino que también aporta beneficios científicos. Muchos de los métodos de reemplazo tienen una mayor consistencia y exactitud que los métodos con animales ya que utilizan los avances científicos en diferentes metodologías.

Además, los métodos de reemplazo son más económicos pues consiguen una mayor eficacia experimental en menos tiempo. Al no utilizarse animales se evitan todas las formalidades previas a la autorización de cualquier experimento que implique su uso, y la justificación que supone el no utilizar métodos sin animales¹.

Existe la opinión generalizada de que los métodos que utilizan animales son los mejores métodos de estudio y que el reemplazo no aporta datos significativos. En este sentido se ha visto, por ejemplo, que la translación de los estudios preclínicos en animales a los ensayos clínicos para el tratamiento del cáncer es inferior al 8%¹⁶ o inferior al 1% en la enfermedad de Alzheimer¹⁷.

Existe una propuesta para implementar las Tres Erres consistente en realizar una revisión sistemática de diferentes estudios preclínicos. Estas revisiones aportan información sobre la calidad y la translación de los estudios realizados con animales. Así mismo, aportan información para descubrir, desarrollar y validar alternativas sin animales^{18,19}.

El uso de animales en la investigación biomédica se justifica por sus potenciales beneficios para la salud humana, de los animales o del medio ambiente. Cuando se utilizan animales, los científicos tienen que garantizar el menor sufrimiento de los mismos, valorando el daño/beneficio del procedimiento planteado. Una manera de conocer esto y poder aplicarlo es la realización de cursos obligatorios sobre el uso adecuado de animales y como aplicar las Tres Erres. En 2018 se realizó una encuesta online a los participantes de estos cursos en diversas universidades de cuatro países europeos: Portugal, Alemania, Suiza y Dinamarca, con el objetivo de conocer las actitudes de los estudiantes en relación a las Tres Erres antes y seis meses después de la realización del curso. Los resultados de la encuesta muestran que, a pesar de que durante los cursos se explica el concepto de las Tres Erres, no parece que cambie su opinión respecto a la creencia generalizada que no se pueden reemplazar los animales de experimentación. El aspecto que se considera más importante desde el punto de vista ético es evitar el dolor a los animales, más que reducir el número de animales y sobre todo que sustituir a los mismos. Asimismo, el refinamiento se considera más factible y el más importante, siendo el orden de prioridad: refinamiento, seguido de reducción y en último lugar reemplazo. Los resultados de la encuesta antes y después del curso muestran que el reemplazo se ve con escepticismo, y considerando los métodos sin animales como algo complementario al uso de animales, o como etapas previas. La conclusión de los autores del artículo es que las alternativas de reemplazo deberían ser obligatorias en los cursos²⁰. Resultados similares se obtuvieron en otras encuestas realizadas en Holanda en una tesis doctoral defendida en 2017 en la Universidad de Radboud²².

Sesenta años después de la publicación del libro de Russell y Burch todavía hay mucho trabajo a realizar. La formación continuada y la inversión en Tres Erres son necesarias para asegurar que el uso de animales en investigación se reduzca al máximo y que se garantice el bienestar de dichos animales. Sin embargo, todavía existen diferencias entre los países europeos en lo referente a la inversión en investigación y al desarrollo de métodos alternativos.²²

En 2011, el *Center for Alternatives to Animal Testing in Europe* (CAAT-Europe) organizó una reunión de expertos sobre la situación de la difusión del principio de las Tres Erres. El objetivo era establecer un programa educativo organizado en módulos para poder adaptarse a diferentes audiencias en función de sus necesidades específicas. Los temas a considerar incluían el principio de las Tres Erres, la investigación básica, aplicación a toxicología, desarrollo de métodos alternativos, validación, aspectos regulatorios, entre otros.²³

La *European Schoolnet Academy* es la primera plataforma europea de cursos online gratuitos para profesores de educación primaria y secundaria. En una reciente iniciativa han organizado un curso sobre las Tres Erres con la finalidad que los docentes, especialmente de enseñanza secundaria, puedan tener conocimientos sobre métodos alternativos y así enseñar a sus alumnos sobre el tema y estimularles al debate.²⁴

A pesar de los esfuerzos para difundir el concepto de métodos alternativos, la poca aceptación de las alternativas de reemplazo mostradas por parte de la comunidad científica puede ser debida a un desconocimiento de la realidad de los métodos que no utilizan animales, por lo que es fundamental realizar una búsqueda bibliográfica adecuada antes de plantear una metodología con animales de experimentación.

5. Búsqueda de métodos alternativos

Según la legislación sobre experimentación animal, antes de la aprobación de un nuevo procedimiento experimental, es necesario presentar un dossier que incluye un protocolo detallado que será evaluado por un órgano habilitado para ello. La *Federation for Laboratory Animal Science Associations* (FELASA) recomienda cómo se tiene que realizar la evaluación. La revisión ética tiene que garantizar que todas las etapas del trabajo que impliquen animales –desde la planificación, la realización del estudio y la revisión de los resultados– son adecuadas y éticamente justificables. Se tiene que considerar la posibilidad de que el proyecto se pueda realizar sin animales, el balance daño-beneficio a los animales y la optimización del cuidado y alojamiento de los mismos, así como el entrenamiento efectivo y la supervisión de todo el personal implicado en el procedimiento.^{25,26}

Otro de los puntos relevantes planteados en la evaluación de un procedimiento está la búsqueda de métodos alternativos, es decir, de reemplazo, reducción y refinamiento. En muchos casos, y especialmente relacionado con el reemplazo, la búsqueda de estrategias alternativas que no requieran de la utilización de animales no se realiza de manera concienzuda y se justifica diciendo que no existen dichos métodos alternativos.

Para facilitar esta búsqueda, el *European Union Reference Laboratory for Alternatives to Animal Testing* (EURL- ECVAM) elaboró una guía de ayuda, considerando los buscadores a utilizar y las estrategias de la búsqueda. La guía proporciona ejemplos de búsqueda, sugiere palabras, etc. También incluye un “check list” que permite la búsqueda de una manera sistemática y estructurada, y para comprobar que la misma se ha realizado de forma adecuada, sin olvidar

ningún aspecto relevante. Asimismo, proporciona una lista de las revistas más relevantes en Tres Erres y una lista de palabras relevantes clasificadas por categorías.²⁷

Por otro lado, www.buscaalternativas.com es una página web creada por Guillermo Repetto, de la Red Española de Métodos Alternativos (REMA). La web incluye un módulo práctico de aprendizaje para la búsqueda. Según éste, por ejemplo, para buscar alternativas de reemplazo recomienda como concepto más útil la palabra “vitro”. Otras opciones como “alternatives”, “animal testing alternatives” o “replacement” se consideran menos útiles, pero no se debe descartar su utilización. En la misma web aparecen ordenados una serie de enlaces a páginas web relacionadas con los métodos alternativos en general.²⁸

En la búsqueda de alternativas de reemplazo no se debe utilizar como palabra clave la especie animal que se está utilizando, pues obviamente solamente encontraremos información sobre experimentos con dicha especie. Este es uno de los errores más frecuentes de los investigadores, y entre otros, supone que éstos justifiquen sus estudios diciendo que no se han encontrado alternativas que puedan reemplazar a los animales.

La búsqueda no siempre es fácil, pero esto no es excusa para no realizarla, y cuando se tiene práctica no resulta tan complicado. Por ello se tiene que hacer el esfuerzo, y con la ayuda de estas guías podemos obtener gran información sobre las alternativas de reemplazo, refinamiento y reducción.

6. Alternativas de reemplazo

Cuando se realiza una búsqueda de métodos de reemplazo nos encontramos numerosos ejemplos de métodos alternativos. Existen métodos que utilizan animales inferiores, como insectos o nemátodos, que permiten estudiar enfermedades como la diabetes y la obesidad. Asimismo, estos modelos sirven para el estudio de enfermedades del sistema nervioso como el Alzheimer.²⁹

El cultivo celular es criticado por considerarlo demasiado simple, a pesar de que da buenos resultados en estudios de Toxicología, si bien su uso no es de utilidad para cualquier tipo de estudio. En la actualidad se pueden desarrollar modelos más complejos incluso con células madre, modelos tridimensionales e ingeniería de tejidos que muestran una mejor correlación con los datos en humanos. Por ejemplo, los modelos 3D intestinales reproducen la fisiología del intestino sano y asimismo permiten estudiar las interacciones con parásitos y ciertas enfermedades intestinales.¹

La tecnología de la edición génica por CRISPR permite editar los genes de cualquier especie a la carta³⁰. Pero no sólo eso, sino que se pueden introducir en organoides derivados del epitelio intestinal humano para imitar ciertas enfermedades, como el cáncer colorrectal³¹. Los organoides son órganos en miniatura desarrollados en el laboratorio y con propiedades similares al propio órgano real. Recientemente se ha demostrado que estos organoides son útiles en el estudio de la infección por coronavirus³². Entre los avances más novedosos y que están en auge son los llamados órgano en un chip, o incluso cuerpo en un chip, que consisten en un sistema de cultivo celular que simula el microambiente y los aspectos funcionales de los órganos vivos a pequeña escala usando tecnología de bioingeniería y de tecnología de fluidos.³³

La utilización de embriones también se considera una alternativa, por ejemplo, de los modelos de cáncer en roedores. En este sentido, el embrión de pollo permite estudiar incluso metástasis que hasta hace un tiempo solamente se podían estudiar con modelos animales.^{34,35}

Por otro lado, los avances en computación y los modelos matemáticos también permiten muy buenas correlaciones.¹

7. Prohibición del uso de animales para la evaluación de la seguridad de cosméticos

Desde los años 90 se planteaba en Europa suprimir la experimentación animal para la evaluación de la seguridad de los cosméticos, pero la falta de métodos validados fue posponiendo la decisión. En 2004 se prohibieron los ensayos de productos cosméticos acabados utilizando animales y dichos ensayos sólo se podían realizar con los ingredientes. En 2009 se prohibieron los ensayos de ingredientes utilizando animales, y sólo se permitieron los ensayos que requerían administración de dosis repetidas, como los ensayos de toxicidad crónica o subcrónica, los ensayos de toxicidad de la reproducción, de carcinogénesis o los ensayos de sensibilización. A partir de marzo de 2013 se prohibió totalmente el uso de animales de experimentación para ensayar los ingredientes cosméticos.

Otros países como Turquía, India, Taiwán, Corea del Sur, Nueva Zelanda y Guatemala han seguido la iniciativa europea. Otros países están estudiando aplicar la prohibición como son Ucrania, Rusia, Argentina, Chile, Colombia, Canadá, Brasil, Japón, Estados Unidos y Australia. En Brasil de los 26 estados que lo forman, 6 ya lo han prohibido, siendo el primero Sao Paulo y en Estados Unidos, California ha prohibido recientemente el uso de animales. En China es obligatorio hacer ensayos con animales para los productos de importación, pero no es obligatorio para sus propios cosméticos.³⁶

Se han desarrollado un gran número de métodos alternativos que están validados y aceptados y que se utilizan para la evaluación de los ingredientes cosméticos³⁷. Una actualización de dichos métodos aparece en la guía de evaluación del Comité Científico de Seguridad del Consumidor de la Comisión Europea que es el comité de expertos encargados de la evaluación de seguridad de dichos ingredientes.³⁸

8. Ensayos regulados

Los ensayos regulados son aquellos que se realizan siguiendo unas guías establecidas para el registro de nuevos productos. En el caso de los productos químicos se siguen las guías de la Organización Económica para la Cooperación y el Desarrollo (OECD), con las que se ensaya el potencial efecto sobre la salud humana y el medio ambiente. Son métodos estandarizados, aceptados internacionalmente, que están constantemente actualizándose y adaptándose al avance de los conocimientos científicos. Son elaborados con la ayuda de expertos de las agencias reguladoras, la academia, la industria y las organizaciones protectoras de animales y medio ambiente. Tradicionalmente, los procedimientos descritos en estas guías se realizaban utilizando animales, pero se han ido sustituyendo por métodos alternativos. En algunos casos se han modificado los métodos incluyendo reducción y/o refinamiento, pero cada vez se aceptan más métodos de reemplazo. Por ejemplo, la última actualización corresponde al 22 de noviembre de 2019 e incorpora un método *in vitro* para identificar sustancias que produzcan lesiones graves a nivel ocular.³⁹

La mayoría de estos ensayos se engloban dentro de los estudios toxicológicos, área en la que se ha trabajado más en la búsqueda de alternativas, por tratarse de ensayos que son muy cruentos para los animales, ya que les provocarán un efecto tóxico que en muchos casos acaba en su muerte. Asimismo, al tratarse de ensayos regulados existen muchos datos *in vivo* que permiten comparar con los resultados obtenidos *in vitro*.⁴⁰

Otros ensayos regulados son aquellos que están incluidos en las diferentes farmacopeas para la evaluación de la seguridad y/o eficacia de algunos productos farmacéuticos. A pesar del incremento del número de ensayos regulados que no utilizan animales, las agencias reguladoras todavía exigen ensayos *in vivo* para el registro de nuevos productos farmacéuticos y químicos.^{41,42}

9. Validación de métodos alternativos

En ocasiones los investigadores que trabajan con animales argumentan que no pueden utilizar métodos de reemplazo porque no están validados. Pero en investigación básica o aplicada no es necesario que todos los experimentos lo estén: la validación sólo es necesaria a nivel regulatorio, y además los procedimientos deben cumplir con las buenas prácticas de laboratorio para ser aceptados.

La validación de un método alternativo es un procedimiento largo que garantiza su validez comparada con el método tradicional que utilizaba animales. El Centro Europeo para la Validación de Métodos Alternativos (ECVAM, por sus siglas en inglés), se creó en 1992, en respuesta a la antigua Directiva 86/609/CEE sobre la protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos. Tanto la antigua Directiva como la actual, exigen a los Estados miembros y a la Comisión que apoyen activamente el desarrollo, validación y aceptación de métodos que puedan reducir, mejorar o sustituir la utilización de animales de laboratorio. Establece, asimismo, que “no deberá realizarse un experimento si se dispone de otro método científicamente satisfactorio, razonable y factible para obtener el resultado perseguido, y que no implique la utilización de un animal”.¹³

En la actualidad, el centro de validación se denomina EURL- ECVAM (European Union Reference Laboratory for Alternatives to Animal Testing) y coordina a nivel europeo la validación de métodos de ensayo alternativos, además actúa como centro de intercambio de información sobre la elaboración de tales métodos.⁴³

La validación de métodos alternativos se define como el proceso por el cual se establece la fiabilidad e importancia de un método con un objetivo bien definido. La fiabilidad está relacionada con la reproducibilidad intra e interlaboratorio, así como la transferibilidad. Por su parte la importancia del método se basa en las bases científicas del método y en su capacidad predictiva.

La validación se realiza por órganos independientes como EURL- ECVAM y sus homólogos en los Estados Unidos (ICCVAM), Japón (JACVAM) y Canadá (Environmental Health Science and Research Bureau), en Corea del Sur (KoVAM) y en Brasil (BRACVAM). Todos estos centros colaboran estrechamente con el objetivo de conseguir a nivel mundial la validación de métodos alternativos.⁴⁴

10. Alternativas en educación

En la docencia, especialmente la universitaria, se utiliza gran cantidad de animales. Si bien es discutible la validez de estas prácticas⁴⁵, un hecho curioso es que los estudiantes consideran que son necesarias para su formación y las aceptan sin plantearse la posibilidad de alternativas⁴⁶. Muchas veces es por la propia reticencia de los profesores, que no realizan esfuerzos por cambiar las prácticas tradicionales y no forman adecuadamente a sus estudiantes en alternativas⁴⁷. A pesar de que se han hecho esfuerzos para reemplazar a los animales en la docencia universitaria práctica, todavía existen profesores que los utilizan y aún existen barreras que se han de saltar para la completa utilización de modelos alternativos sin animales.⁴⁸

Con el fin de ayudar al profesorado en la búsqueda de alternativas en la docencia, se creó InterNICHE, una red internacional por una educación más humanitaria que no utilice animales. Contiene una base de datos con más de 1000 alternativas clasificadas por disciplinas y tipología. Muy interesante resulta el sistema de préstamo de alternativas, tanto para profesores como para estudiantes, con la finalidad que se familiaricen con estos métodos. A nivel del profesorado, permite tomar decisiones sobre la aplicación de modelos alternativos en sus clases, probándolos antes de realizar una inversión económica. Asimismo, InterNICHE realiza mucha difusión de las alternativas acudiendo a numerosos congresos y reuniones internacionales, presentando sus diferentes modelos.⁴⁹

NORINA (Norwegian Inventory of Alternatives) es otra base de datos en inglés que ha recogido desde 1991 información sobre más de 3000 audiovisuales para docencia y el entrenamiento, desde primaria hasta la educación universitaria. Contiene una descripción de todas las alternativas. En la actualidad, NORINA está incluida en NORECOPA (Norway's National Consensus Platform), fundada en 2007 para el avance de las Tres Erres, y con una página web muy completa sobre recursos en Tres Erres.⁵⁰

Existen diferentes métodos alternativos para ser utilizados en docencia, como modelos o maniqués, modelos de disección de rata que permiten conocer la anatomía de estos animales sin necesidad de dañarlos, o la utilización de órganos procedentes de matadero. Existen simulaciones de ordenador cada vez más avanzados, y muy especialmente los sistemas de realidad virtual, que permiten estudiar el funcionamiento del cuerpo, incluso a nivel celular. En ciencias médicas y biomédicas son muy útiles los estudios inocuos sobre el propio estudiante, como por ejemplo la medición de la presión arterial o de la capacidad respiratoria. La introducción de métodos *in vitro* en la docencia práctica acerca al estudiante a los sistemas que se están utilizando actualmente en investigación⁵¹. Asimismo, existe la posibilidad de estudiar con casos clínicos reales, es decir, con animales que tienen el padecimiento de forma natural.⁵²

Conclusiones

A pesar de los esfuerzos que se realizan para difundir el concepto de métodos alternativos y especialmente de reemplazo, los investigadores continúan con la idea errónea de que el “Gold standard” es la experimentación con animales, siendo menos relevantes los estudios que se realizan sin animales. Por ello es necesario continuar haciendo difusión y ayudando a los investigadores a realizar una búsqueda adecuada y precisa de las alternativas que se están desarrollando en los últimos años en el mundo.

Bibliografía

- (1) MacArthur Clark J. (2018) “The 3Rs in research: a contemporary approach to replacement, reduction and refinement”. *Br J Nutr.* 120(s1): S1–S7.
- (2) Aranda García, A.; Pastor García, L.M. (1997) “Ética de la experimentación con animales”. *Revista Bioética y Ciencias de la Salud* 3 (4).
- (3) Midgley, M. (1998). *Animals and Why They Matter*. University of Georgia Press.
- (4) Giraldez, A. (2008) “Breve historia de la experimentación animal”. Real Academia de Farmacia. *Lecturas singulares*. Madrid. <http://bibliotecavirtual.ranf.com/i18n/consulta/registro.cmd?id=13575> [consulta: 05/05/2020]
- (5) Russell, W.M.S.; Burch, R.L. (1959) *The principles of humane experimental technique*. Methuen and Co Ltd. London. <https://caat.jhsph.edu/principles/the-principles-of-humane-experimental-technique>. [Consulta: 27/01/2020].
- (6) Zurlo, J.; Rudacille, D.; Goldberg, A.M. (1994) “Animal Experimentation: Ethics and Law”. In: *Animals and Alternatives in Testing History, Science, and Ethics*. Mary Ann Liebert, Inc. http://altweb.jhsph.edu/caat/pubs/animal_alts/chap5.html. [Consulta: 27/01/2020].
- (7) Singer, P. (1975) *Animal Liberation*. HarperCollins Publishers LLC.
- (8) Tannenbaum, J.; Bennett, B.T. (2015) “Russell and Burch's 3Rs then and now: the need for clarity in definition and purpose”. *J Am Assoc Lab Anim Sci.* 54(2):120–32.
- (9) Kirk, R.G.W. (2018) “Recovering the Principles of Humane Experimental Technique: The 3Rs and the Human Essence of Animal Research”. *Sci Technol Human Values.* 43(4):622–48.

- (10) Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:31986L0609:en:HTML> [Consulta: 27/01/2020].
- (11) Ley 22/1995, de 21 de junio, sobre Protección de los Animales utilizados para experimentación y otras finalidades científicas. (DOGC nº 2073 de 10 de julio de 1995).
- (12) Real Decreto 1201/2005, de 10 de octubre, sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos. <https://www.boe.es/eli/es/rd/2005/10/10/1201> [consulta 05/05/2020].
- (13) European Directive 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific purposes <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:276:0033:0079:En:PDF>. [consulta 05/05/2020].
- (14) López Tremoleda, J. (2012) “Comentarios sobre la Directiva Europea 2010/63/EU para la protección de animales de laboratorio”. *Revista de Bioética y Derecho*. 24, 61-72.
- (15) Real Decreto 53/2013, de 1 de febrero, por el que se establecen las normas básicas aplicables para la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos, incluyendo la docencia. <https://www.boe.es/eli/es/rd/2013/02/01/53> [consulta 27/01/2020].
- (16) Mak, I.W.; Evaniew, N.; Ghert, M. (2014) “Lost in translation: animal models and clinical trials in cancer treatment”. *Am J Transl Res*; 6(2):114–8.
- (17) Drummond, E.; Wisniewski, T. (2017) “Alzheimer's disease: experimental models and reality”. *Acta Neuropathol*; 133(2):155–75.
- (18) Van der Worp, H.B.; Howells, D.W.; Sena, E.S.; Porritt, M.J.; Rewell, S.; O'Collins, V.; MacLeod, M.R. (2010) “Can animal models of disease reliably inform human studies?” *PLoS Med*; 7(3):e10002452010.
- (19) Ritskes-Hoitinga, M.; Van Luijk, J. (2019) “How Can Systematic Reviews Teach Us More about the Implementation of the 3Rs and Animal Welfare?” *Animals (Basel)*; 9(12):1163.
- (20) Franco, N.H.; Sandøe, P.; Olsson, I.A.S. (2018) “Researchers' attitudes to the 3Rs-An upturned hierarchy?” *PLoS One*; 13(8):e0200895.
- (21) Van Luijk, A.K.R. (2017) *The next steps towards responsible animal based-research. Evaluation of strategies to improve scientific quality and responsible animal use in research*. Thesis

dissertation. Radboud University.
<https://repository.ubn.ru.nl/bitstream/handle/2066/169267/169267.pdf?sequence=1>

- (22) Hubrecht, R.C.; Carter, E. (2019) “The 3Rs and Humane Experimental Technique: Implementing Change”. *Animals* (Basel); 9(10): E754.
- (23) Daneshian, M.; Akbarsha, M.A.; Blaauboer, B.; Caloni, F.; Cosson, P.; Curren, R.; Goldberg, A.; Gruber, F.; Ohl, F.; Pfaller, W.; Van der Valk, J.; Vinardell, P.; Zurlo, J.; Hartung, T.; Leist, M. (2011) “A framework program for the teaching of alternative methods (replacement, reduction, refinement) to animal experimentation”. *ALTEX*; 28(4):341–52.
- (24) The Three Rs and Animal Use in Science (2020).
<https://www.europeanschoolnetacademy.eu/courses/course-v1:3Rs+AnimalsInScience+2020/about#about> [Consulta: 27/01/2020]
- (25) Brønstad, A.; Newcomer, C.E.; Decelle, T.; Everitt, J.I.; Guillen, J.; Laber, K. (2016) “Current concepts of Harm–Benefit Analysis of Animal Experiments – Report from the AALAS–FELASA Working Group on Harm–Benefit Analysis – Part 1”. *Lab Anim*; 50(1 Suppl):1-20.
- (26) Laber, K.; Newcomer, C.E.; Decelle, T.; Everitt, J.I.; Guillen, J.; Brønstad, A. (2016) “Recommendations for Addressing Harm–Benefit Analysis and Implementation in Ethical Evaluation – Report from the AALAS–FELASA Working Group on Harm–Benefit Analysis – Part 2”. *Lab Anim*.; 50(1 Suppl):21-42.
- (27) Roi, A.J.; Grune, B.; Richmond, J. The EURL ECVAM Search Guide: Good Search Practice to Animal Alternatives. EC-Joint Research Centre
<https://ec.europa.eu/jrc/en/publication/books/eurl-ecvam-search-guide-good-search-practice-animal-alternatives>. <https://ec.europa.eu/jrc/en/publication/books/eurl-ecvam-search-guide-good-search-practice-animal-alternatives> [consulta 05/05/2020].
- (28) Buscaalternativas.com en/y a la experimentación animal. <http://Buscaalternativas.com> [Consulta: 27/01/2020]
- (29) Apfeld, J.; Alper, S. (2018) “What Can We Learn About Human Disease from the Nematode *C. elegans*?” *Methods Mol Biol*; 1706:53–75.
- (30) Marfany, G. (2019) “Interrogantes y retos actuales de la edición genética”. *Rev. Bio. Der*; 47,17-31.
- (31) Michels, B.E.; Mosa, M-H.; Streibl, B.I.; Zhan, T.; Menche, C.; Abou-el-Ardatt, K.; Darvishi, T.; Czlonka, E.; Wagner, S.; Winter, J.; Medyouf, H.; Boutros, M.; Farin, H.F. (2020) “Pooled In Vitro and In Vivo CRISPR-Cas9 Screening Identifies Tumor Suppressors in

- Human Colon Organoids”. *Cell Stem Cell*; S1934-5909(20)30142-9. doi: 10.1016/j.stem.2020.04.003.
- (32) Zhou, H.; Liu, L.P.; Fang, M.; Li, Y.M.; Zheng, Y.W. (2020) “A potential ex vivo infection model of human induced pluripotent stem cell-3D organoids beyond coronavirus disease”, *Histol Histopathol.* 27:18223. doi: 10.14670/HH-18-223.
- (33) Kimura, H.; Sakai, Y.; Fujii, T. (2018) “Organ/body-on-a-chip based on microfluidic technology for drug Discovery”. *Drug Metab Pharmacokinet*; 33(1):43-48. doi: 10.1016/j.dmpk.2017.11.003.
- (34) Ribatti D. (2016) “The chick-embryo chorioallantoic membrane (CAM). A multifaceted experimental model”. *Mech Dev.* 141:70–7.
- (35) Herrmann, A.; Moss, D.; Sée, V. (2016) “The Chorioallantoic Membrane of the Chick Embryo to Assess Tumor Formation and Metastasis”. *Methods Mol Biol*; 1464:97–105.
- (36) Grum, T. (2019) *Global ban on animal testing: where are we in 2019?* <https://www.cosmeticsdesign-europe.com/Article/2019/03/05/Global-ban-on-animal-testing-where-are-we-in-2019>. [Consulta: 27/01/2020].
- (37) De Lapuente, J.; Borrás Suárez, M.; González Linares, J.; Llanas, H.; Mitjans, M.; Ramos López D.; Vinardell, M.P. (2014) “Los métodos alternativos en el estudio de la seguridad de cosméticos”. *Rev. Toxicol*; 31 (2), 140-8.
- (38) SCCS (Scientific Committee on Consumer Safety), SCCS Notes of Guidance for the Testing of Cosmetic Ingredients and their Safety Evaluation. 10th revision, 24-25 October 2018, SCCS/1602/18. https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_o_224.pdf. [Consulta: 30/04/2020].
- (39) OECD Test Guidelines for the Chemicals. https://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-4-health-effects_20745788 [Consulta: 30/04/2020].
- (40) Vinardell, M.P. (2007) “Alternativas a la experimentación animal experimentación en Toxicología: situación actual”. *Acta Bioethica*; 13 (1), 41-52.
- (41) European Medicines Agency (EMA) <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/post-authorisation/data-medicines-iso-idmp-standards/registration> [Consulta: 04/05/2020]

- (42) European Chemical Agency (ECHA)
<https://echa.europa.eu/es/regulations/reach/substance-registration/the-registration-dossier> [Consulta: 04/05/2020]
- (43) EU Reference Laboratory for alternatives to animal testing. EURL-ECVAM
<https://ec.europa.eu/jrc/en/eurl/ecvam> [Consulta: 30/04/2020]
- (44) Griesinger, C.; Desprez, B.; Coecke, S.; Casey, W.; Zuang, V. (2016) "Validation of Alternative In Vitro Methods to Animal Testing: Concepts, Challenges, Processes and Tools". In: Eskes C., Whelan M. (eds) *Validation of Alternative Methods for Toxicity Testing. Advances in Experimental Medicine and Biology*, Springer, vol 856, pp 65-132.
- (45) Ortiz Millan, G. (2016) "Víctimas de la educación. La ética y el uso de animales en la educación superior". *Rev Educ Sup*; 45(177): 147-70.
- (46) Durand, M.T.; Restini, C.B.A.; Wolff, A.C.D.; Faria, M. Jr.; Couto, L.B.; Bestetti, R.B. (2019) "Students' perception of animal or virtual laboratory in physiology practical classes in PBL medical hybrid curriculum". *Adv Physiol Educ*;43(4):451-7.
- (47) Vinardell, M.P. (2012) "Challenges of Using Alternatives to Animals in Laboratory Classes in Physiology: the Spanish Experience". *ALTEX Proceedings*; 351-2.
http://www.altex.ch/resources/351353_Pilar_Vinardell31.pdf. [consulta 04/05/2020].
- (48) Mallia, C.; Logan, P.; Freire, R. (2018) "Exploring the use of alternatives to animals in undergraduate education in Australia". *Altern Lab Anim*;46(3):145-76.
- (49) InterNICHE. <http://www.interniche.org/en/loansystem>. [consulta 27/01/2020]
- (50) NORINA (A Norwegian Inventory of Alternatives). <https://norecopa.no/norina>. [consulta 27/01/2020]
- (51) Vinardell, M.P. (2014) "Alternativas a los animales de laboratorio en la docencia". *Rev. Toxicol*; 31(2), 124-9.
- (52) Téllez, E.; Schunemann, A.; Vanda, B.; Linares, J.E. (2014) "Argumentos con los que se intenta legitimar la enseñanza lesiva con animales en medicina veterinaria y zootecnia". *Dilemata. Revista Internacional de Éticas Aplicadas*; 6(15): 289-298.

Fecha de recepción: 5 de mayo de 2020

Fecha de aceptación: 25 de junio de 2020