

# Tipos de Ensayos

Los ensayos toxicológicos, (envenenamiento) sobre animales involucran básicamente someter a los animales a diferentes niveles de toxicidad potencial a través de diferentes vías de exposición, con el objeto de obtener información de cómo y cuáles son las rutas de exposición mediante las cuales ellos son afectados. La nueva política de productos químicos en la UE, establece diferentes niveles para los ensayos, basados en el volumen de producción de los químicos involucrados. La vasta mayoría de los químicos, (producidos o importados en cantidades iguales a 10 toneladas o más), estarán sometidos a severos ensayos empleando animales. Cuánto mayor sea la producción, más ensayos en animales serán requeridos.

La lista de posibles ensayos de toxicidad en animales que pueden resultar de la nueva política europea, los puede leer a continuación, y son realmente perturbadores.

## Toxicidad aguda

Para valorar los efectos tóxicos en el cuerpo entero con una sola (generalmente muy alta) dosis de una sustancia. Utiliza generalmente de 15-30 ratas por sustancia. Las sustancias químicas serán administradas generalmente por alimentación forzada, (vía oral, donde las sustancias químicas se bombean directamente al estómago con un tubo o jeringa); inyección directamente en sangre; o aspiración forzada donde los animales son confinados en una cámara de aspiración o cubiertos con una máscara sobre la boca. La prueba se realiza generalmente sin cualquier alivio del dolor. Los animales se albergan por un mínimo de cinco días para 'aclimatarlos' antes de ser dosificados con la sustancia y observados por 14 días. Los animales que serán dosificados oralmente sufrirán "hambruna" antes del ensayo. Los síntomas incluyen los cambios de presión, la pérdida de peso, la salivación excesiva, el daño interno del órgano, alteraciones en la respiración, convulsiones, sangrado de ojos, nariz o ano, pilo-erección (pelo que se para al final), temblores, diarrea, coma e incluso la muerte. Todos los animales se matan al finalizar la prueba para la autopsia.

## Estudios de irritación de piel.

Para medir la capacidad de una sustancia química para causar daño reversible de la piel. En estos estudios, los conejos se mantienen juntos, el pelo en su espalda se afeita y la sustancia química es aplicada sobre la piel en una sola dosis. Después de cuatro horas la sustancia se quita, pero los conejos se mantienen guardados por varios días mientras los investigadores examinan la piel y miden la extensión del daño que resulta. Los animales en estudios de irritación de piel sufren horriblemente ya que las sustancias químicas pueden comer la piel, causando dolorosos hinchazones, lesiones de piel y ulceraciones. Ningún alivio al dolor se proporciona normalmente.

## Estudios de irritación de ojos

También conocido como test ocular de Draize; utilizado para valorar la irritabilidad aguda de una sustancia cuando es aplicada directamente al ojo. Utiliza generalmente por lo menos tres conejos albinos adultos por sustancia. La sustancia se gotea en un ojo de cada conejo consciente, a menudo inmovilizado para la dosificación, mientras el otro ojo no probado sirve como un control. Los conejos tienen también menos flujo de lágrimas que los humanos y son por lo tanto menos capaces de 'llorar' expulsando las sustancias dolorosas, que es una de las razones de por qué los científicos utilizan esta especie. Los conejos carecen también del reflejo del parpadeo, que hace que la aplicación de las

sustancias químicas sean más fáciles. Durante las pruebas, el daño a los ojos tales como la nubosidad, enrojecimiento, hinchazón, la ulceración u ojos llorosos se registren sobre un período de 21 días para una sola dosis. Ningún alivio del dolor se proporciona normalmente.

### **Sensibilidad de la piel**

Para valorar la habilidad de una sustancia que se ensaya para causar una reacción alérgica en la piel. Un mínimo de 17 conejillos de indias (albinos), serán utilizados generalmente (aunque podrán llegar a ser como 30) por sustancia química a ensayar. Su espalda se afeita y la sustancia a ensayar se aplica sobre la superficie de la piel o se inyecta bajo la piel. Múltiples dosis se pueden aplicar sobre un período de semanas para causar (cualquier) reacción local. Los síntomas incluyen enrojecimiento de la piel, agrietamiento o peladuras, hinchazones, inflamaciones y la ulceración.

### **Toxicidad sub-crónica & dosis repetidas**

Valora los efectos tóxicos en el cuerpo entero de dosis sub-mortales repetidas de una sustancia química (por Ej.: la dosificación piensa demostrar los efectos de envenenamiento en órganos internos, el sistema nervioso, etc. pero no llegando a la muerte). De 40 a 80 ratas son utilizadas generalmente para ser tratadas por sustancias químicas y/o 32 perros pueden ser utilizados también como una segunda especie "no-roedora". Los animales son repetidas veces inoculados con una sustancia química durante un período de 28-90 días. Esto se hace generalmente en forma oral (alimentación forzada con una jeringa o un tubo) pero puede ser administrado también dérmicamente o puede ser por inhalación. Al final de esta dura prueba, los animales se matan y sus tejidos son examinados patológicamente y bioquímicamente. A veces un grupo "satélite" de diez animales se trata también con el nivel más alto de dosificación durante 28 días. Este procedimiento supuestamente establece si cabe suponer un nivel básico para medir los efectos de las dosis de **\*\*overflow\*\***. Los síntomas pueden incluir los cambios de presión, salivación excesiva, anemia, agresión, debilidad muscular, pérdida de cabello, daños internos de órganos, pilo-erección, vómitos (en perros), temblores, diarrea, coma y ocasionalmente la muerte.

### **Toxicidad crónica**

Para valorar los efectos de la exposición química a largo plazo por períodos significativos de la vida del animal. Al igual que con la toxicidad sub-crónica & dosis repetidas, una especie de roedor (generalmente 160 ratas) y una especie de no-roedor (generalmente 32 perros pero puede implicar primates) será sometidos a la exposición vía alimentación forzada, dosificación en el alimento, por la piel o vía aspiración forzada. La longitud del estudio es por lo menos de 12 meses y puede llegar a tanto como 2 años. Los síntomas pueden incluir cambios de presión, pérdida del apetito, agresión, agitación, debilidad muscular, salivación excesiva, daño interno de órganos, pilo-erección, vómitos (perros), temblores, diarrea con sangre, coma y muerte.

### **Mutagenicidad**

Para identificar cualquier efecto mutagénico (mutaciones genéticas) de la sustancia química o en las células que rápidamente se encuentran dividiendo en la médula ósea o en los núcleos de las células sanguíneas. Generalmente se utilizan 40 ratas, ratones o hámsteres, el material a ensayar se administra oralmente o por inyección en la cavidad del cuerpo. Dos grupos de control se utilizan para cada sustancia de prueba y régimen de dosis - un grupo no recibe la sustancia química y el segundo grupo recibe un compuesto que se sabe va a tener efectos en los genes. Se utilizan dosis únicas o múltiples y muestras del tejido, la sangre o la médula ósea son tomadas 48 horas después que se

suministró la sustancia química de ensayo para que se pueda examinar algún cambio genético.

### **Toxicidad del Desarrollo (teratogenicidad)**

Para valorar si la Sustancia a ensayar, cuando es ingerida, causa malformaciones en el embrión. Esto implica generalmente por lo menos 80 ratas encintas o 48 conejas encintas sujetas a una dosis o concentración graduadas de la sustancia de ensayo durante el período de formación de órganos en el embrión en desarrollo. Se dan tres niveles de dosis donde el más alto es suficiente para provocar cambios secundarios en la madre (por ejemplo la pérdida de peso). La dosificación es generalmente oral y los embriones se matan y son examinados para buscar cambios anatómicos gruesos o más sutiles. Las madres soportan alimentación forzada diaria por tubos hasta el estómago durante el embarazo y pueden experimentar pobre aumento de peso, pérdida del apetito, descarga nasal, pilo-erección, pérdida de cabello, diarrea, deshidratación y ocasionalmente la muerte. Los animales no nacidos también pueden ser dañados por la sustancia química.

### **Toxicidad reproductiva (mamíferos)**

Para identificar cualquier efecto de una sustancia química sobre la capacidad masculina o femenina reproductora. Se utilizarán aproximadamente 100 ratas hembra (80 encintas) y 40 ratas macho. A ellos se les da dosis graduales (generalmente vía oral) durante sus ciclos reproductivos (formación de esperma y la absorción en el masculino y durante dos ciclos en la hembra). La evaluación de los efectos se realiza post-administración, en la fecundidad, el embarazo y los efectos maternos (comportamiento en alimentación y para anidar). Los efectos se pueden encontrar en el tejido reproductor, el cerebro o los sistemas sexuales secundarios. Estos animales soportan alimentación forzada diaria por tubo hasta el estómago y pueden experimentar también pobres aumentos de peso, la pérdida del apetito, descarga nasal, pilo-erección, pérdida de cabello, diarrea, deshidratación y la muerte.

### **Carcinogenicidad**

Utilizada para discernir algún cambio canceroso como resultado de la exposición a una sustancia. Se utilizan por lo menos 400 ratas o ratones muy jóvenes por sustancia e implica la dosificación de los animales inmediatamente después del destete como sea posible y después por el resto de su vida. Los animales son generalmente alimentadas a la fuerza por la sustancia pero las sustancias químicas también se pueden pintar en la piel o suministrados por aspiración forzada. Los síntomas de este envenenamiento lento de sustancias químicas incluyen aparición de tumores cancerosos, letargo, náusea y la muerte; la autopsia revelará también cualquier daño interno de órgano o tejido. Estas pruebas pueden costar \$2 millones por el costo de las sustancias químicas y tomar cinco años para obtener los resultados.

### **Toxicocinéticas**

Se utilizan para seguir el curso de efectos tóxicos (envenenamiento) en el transcurso del tiempo y para averiguar cuán rápida o fácilmente es que una sustancia se absorbe en el intestino o en la sangre a través de la piel, cuán extensa está en la circulación y cómo se metaboliza y es excretado. Las dosis pueden ser únicas o múltiples. Se utilizan por lo menos ocho animales jóvenes y sanos (puede ser roedores y perros) por sustancia química y dosificados oralmente, vía piel o aspiración forzada. Durante los ensayos, los animales se aíslan en pequeñas, áridas, jaulas metálicas de metabolismo para que su orina y heces se puedan reunir en forma separada. Algunos animales tienen también tubos implantados en sus conductos de la bilis. Los síntomas incluyen la pérdida del apetito,

letargo, descarga nasal, pilo-erección, pérdida de cabello, diarrea, deshidratación y vómito (en perros). Al final del experimento todos los animales se matan y son examinados para medir la acumulación de sustancias de ensayo en los órganos correspondientes.

### **Eco-toxicidad**

Por ejemplo, la toxicidad aguda en peces. Las pruebas de la eco-toxicidad se realizan para medir los efectos de sustancias químicas en el medioambiente y la fauna. En la toxicidad de peces, la sustancia química de ensayo se pone en el agua de grandes peceras y se mantienen registros de cuántos peces mueren como resultado del envenenamiento lento durante varios días.