



Universidad Nacional de Salta
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

AV. BOLIVIA 5150 – A4408FVY SALTA
REPUBLICA ARGENTINA
TELEF. (0387) 4255404/330/332
TELEF. FAX (0387) 4255456



RESOLUCION -CD- N°

286-18

Salta, **25 ABR 2018**
Expediente N° 12.519/17

VISTO: La nota presentada por la Lic. Adriana RAMON, solicitando aprobación de protocolo de utilización de animales, en el proyecto denominado **"Formulación de queso semidescremado tipo mozzarella a base de leche de cabra, con adición de fitoesteroles"**; y,

CONSIDERANDO:

Que fue presentado, con correcciones a fojas 17 a 29, el proyecto de protocolo para la utilización de animales de laboratorio, para ser evaluado por el Comité Institucional del Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL).

Que el Comité, a fojas 16, emite dictamen aprobando el mencionado proyecto.

Que la Secretaría de Postgrado, Investigación y Extensión al Medio, a fojas 29 vta., solicita el tratamiento en el Consejo Directivo del proyecto final.

POR ELLO: en uso de las atribuciones que le son propias y atento a lo aconsejado por la Comisión de Docencia, Investigación y Disciplina, en Despacho N° 66/18;

EI CONSEJO DIRECTIVO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

(En Sesión Ordinaria N° 04/18, del 10/04/18)

RESUELVE:

ARTICULO 1°: Aprobar el dictamen emitido por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL), mediante el cual aprueba el protocolo de utilización de animales para experimentación, en la ejecución del proyecto de investigación denominado: **"Formulación de queso semidescremado tipo mozzarella a base de leche de cabra, con adición de fitoesteroles"**; presentado por la Lic. Adriana RAMÓN, el que como Anexo I forma parte de la presente Resolución.



Universidad Nacional de Salta
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

AV. BOLIVIA 5150 – A4408FVY SALTA
REPUBLICA ARGENTINA
TELEF. (0387) 4255404/330/332
TELEF. FAX (0387) 4255456



RESOLUCION -CD- N° **286-18**

25 ABR 2018
Salta,
Expediente N° 12.519/17

ARTÍCULO 2º Hágase saber y remítase copia a: Lic. Adriana Ramón, Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio, y siga a Dirección Administrativa Académica de esta Facultad a sus efectos.

DGAA.
hmc
MVA

MGS. EUGENIA MARIA VILLAGRAN
SECRETARIA DE POSGRADO, INVESTIGACIÓN
Y EXTENSION AL MEDIO
FAC. DE CIENCIAS DE LA SALUD - UNSa



LIC. MARIA SILVIA
DECANA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD - UNSa



Universidad Nacional de Salta
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

AV. BOLIVIA 5150 – A4408FVY SALTA
REPUBLICA ARGENTINA
TELEF. (0387) 4255404/330/332
TELEF. FAX (0387) 4255456



RESOLUCION -CD- N°

286-18

25 ABR 2018
Salta,
Expediente N° 12.519/17

ANEXO I

PROTOCOLO DE UTILIZACION DE ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Instituto de Patología Experimental- CONICET
Facultad de Ciencias de la Salud
Universidad Nacional de Salta

Cuestionario para el uso de animales en experimentación

Fecha de presentación: 15 de Agosto de 2017.

Título del Trabajo: Formulación de queso semidescremado tipo mozzarella a base de leche de cabra, con adición de fitoesteroles

Investigador Responsable: Adriana Ramón

Lugar de Trabajo: Bioterio de la Fac. de Cs. De la Salud Univ. Nac. de Salta

Teléfono Laboral: 4258635

Email: ramon@unsa.edu.ar

Solicita este aval para la presentación de:

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

¿Cuenta con capacitación para el trabajo con animales de experimentación?

Equipo de trabajo:

Con Capacitación: Noelia Paz; Enzo Goncalvez

Sin Capacitación: Marisa Rivas; Adriana Ramón

(no invalida la aprobación del protocolo)
(adjuntar certificado)

	No
x	Si



Universidad Nacional de Salta
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

AV. BOLIVIA 5150 – A4408FVY SALTA
REPUBLICA ARGENTINA
TELEF. (0387) 4255404/330/332
TELEF. FAX (0387) 4255456



RESOLUCION -CD- Nº

286-18

25 ABR 2018

Salta,
Expediente Nº 12.519/17

ANEXO I

JUSTIFICAR EL USO DEL MODELO ANIMAL FRENTE A MÉTODOS ALTERNATIVOS IN VITRO

Declaración de métodos alternativos

Técnicas o estrategias experimentales que cumplen con el principio de las tres erres (**R**educción del número de animales, **R**efinamiento de la técnica y **R**eemplazo de animales por otras técnicas)

En nuestro grupo de trabajo se han estudiado el efecto hipolipemiante de la palta y efecto del malonaldehído (MDA) sobre las lipoproteínas plasmáticas, pero aún no se ha estudiado el efecto de los fitoesteroles in vivo. Si bien existen modelos in vitro de fitoesteroles, no existen estudios que hayan estudiado el efecto de contenido de fitoesteroles incorporados a un queso tipo mozzarella a base de leche de cabra, en el cual pueda observarse el efecto hipolipemiante de los mismos.

Indicar el motivo por el cual no se plantea aplicar métodos alternativos al procedimiento propuesto:

El procedimiento propuesto es un método alternativo	
No existe método alternativo al procedimiento	x
Existen métodos alternativos pero no están validados	
Otros motivos: (Especificar en detalle)	

Justificar con bibliografía

- Yi, J., Knudsen, T. A., Nielsen, A. N., Duelund, L., Christensen, M., Hervella, P., Needham, D., & Mouritsen, O. G. (2016). Inhibition of cholesterol transport in an intestine cell model by pine-derived phytosterol. *Chemistry and Physics of Lipids*, 20, 62-73.
- Declodta, A. I., Bailly-Chouriberryb, L., Vanden Busschea, J., Garciab, P., Popotb, M. A., Bonnaireb, y., Vanhaeckea, L. (2015). In vitro simulation of the equine hindgut as a tool to study the influence of phytosterol consumption on the excretion of anabolic-androgenic steroids in horses. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, 152, 180-192.
- Yang, F., Oyeyinka, S. A., Xu, W., Ma, Y., & Zhou, S. (2018). In vitro bioaccessibility and physicochemical properties of phytosterol linoleic ester synthesized from soybean sterol and linoleic acid. *LWT*, 92, 265-271.
- Boukes, G. J., & de Venter, M. V. (2016). In vitro modulation of the innate immune response and phagocytosis by three Hypoxis spp. and their phytosterols. *South African Journal of Botany*, 102, 120-126.



Universidad Nacional de Salta
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

AV. BOLIVIA 5150 – A4408FVY SALTA
REPUBLICA ARGENTINA
TELEF. (0387) 4255404/330/332
TELEF. FAX (0387) 4255456



RESOLUCION -CD- N° **286-18**

Salta, **25 ABR 2018**
Expediente N° 12.519/17

ANEXO I

Jemil, I., Abdelhedi, O., Nasri, R., Mora, L., Marrekchi, R., Jamoussi, K., Elfeki, A., Hajji, M., Toldra, F., Nasri, M. (2016). Hypolipidemic, antiobesity and cardioprotective effects of fermented protein hydrolysates from sardinelle (*Sardinella aurita*) in high-fat and fructose diet fed Wistar rats. Life Science, S0024-3205, 30422-2.

Abilés J., Ramón, A.N., Moratalla, G., Pérez-Abud, R., Morón Jiménez J., Ayala A. (2009) Efectos del consumo de aceites termo-oxidados sobre la peroxidación lipídica en animales de laboratorio. Nutr. Hosp. 24(4):473-478.

En caso de tratarse de pequeños roedores de laboratorio (rata/ratón/hámster/gerbil), indicar su condición microbiológica (convencionales/ libres de patógenos específicos). **Debe adjuntar el perfil sanitario de los animales.**

Condición microbiológica de los ratones:

Animales de Experimentación

Especie	Cepa	Edad	Sexo	Nº de animales usados anualmente
<i>Rattus norvegicus</i>	Wistar	6semanas	Hembra	20

Lugar donde se obtienen los animales utilizados para la experimentación (los Proyectos):

Servicio de Animales de Laboratorio, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata.

Condiciones del Bioterio

Ciclo luz/oscuridad	Temperatura	Extracción de aire	Cambio de cama	Otros
12 hs	23 °C	1 0 - 1 recambios/hra	1 vez /semana, 2 4 veces si fuera necesario	

Handwritten signature



Universidad Nacional de Salta
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

AV. BOLIVIA 5150 – A4408FVY SALTA
REPUBLICA ARGENTINA
TELEF. (0387) 4255404/330/332
TELEF. FAX (0387) 4255456



RESOLUCION -CD- N°

286-18

Salta, 25 ABR 2018
Expediente N° 12.519/17

ANEXO I

Justificar el uso de los animales, la elección de la especie y el número usado:

Evaluación del efecto hipocolesterolemizante del producto en ratas: Se evaluará dosis de fitoesteroles y la efectividad de su agregado a alimentos. Para este caso, se utilizará un modelo animal con ratas Wistar para establecer el efecto del consumo de fitoesteroles en las concentraciones sanguíneas de Glucemia, Colesterol Total, col LDL, col HDL y Triglicéridos. Para tener una mayor homogeneidad y disminuir la variabilidad biológica en los grupos, se utilizarán 16 ratas Wistar hembras de la misma edad. Los animales se dividirán en cuatro grupos:

- 1) Dieta control
- 2) Dieta hipergrasa con queso mozzarella sin fitoesteroles
- 3) Dieta hipergrasa con queso mozzarella con fitoesteroles al 3,33 g%
- 4) Dieta hipergrasa con queso mozzarella con fitoesteroles al 6,66 g%

Los animales se colocarán en jaulas y se mantendrán en el bioterio de la Facultad de Ciencias de la Salud, bajo condiciones de humedad ($60 \pm 10\%$), luz (luz artificial de 6 a.m. a 6 p.m.) y temperatura ($21 \pm 10\text{ }^{\circ}\text{C}$) controladas. Tanto al inicio de la experiencia como al final, se efectuarán extracciones de sangre por corte de cola, para realizar las determinaciones bioquímicas por método enzimático colorimétrico (Bustamante et al., 2012).

La elección de la especie se debe a que la misma presenta las siguientes ventajas:

- Como mamífero, tiene procesos bioquímicos similares al hombre.
- Tiempos generacionales cortos, facilitando la obtención de resultados.
- Gran adaptabilidad a la vida en los bioterios, lo que permite controlar las variables ambientales en las experiencias.
- Facilidad de cuidado, manejo y mantenimiento respecto a otras especies.
- Comparte con el hombre el privilegio de ser la especie de mamífero mejor estudiada desde el punto de vista genético.
- Tienen mayor tamaño que el ratón, lo que permite tomar una cantidad suficiente de muestras de sangre para las determinaciones

Costamagna M.S., Zampini I.C., Alberto M.R., Cuello S., Torres S., Pérez J., Quispe C., SchmedaHirschmann G., Isla M.I. (2016) Polyphenols rich fraction from Geoffroeadecorticans fruits flour affects key enzymes involved in metabolic syndrome, oxidative stress and inflammatory process. Food Chemistry 190, 392-402.



Universidad Nacional de Salta
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

AV. BOLIVIA 5150 – A4408FVY SALTA
REPUBLICA ARGENTINA
TELEF. (0387) 4255404/330/332
TELEF. FAX (0387) 4255456



RESOLUCION -CD- Nº **286-18**

25 ABR 2018
Salta,
Expediente Nº 12.519/17

ANEXO I

¿Cómo determinó el tamaño mínimo de la muestra?

El número de animales usados se planteó en base a revisiones bibliográficas.

Abilés J., Ramón, A.N., Moratalla, G., Pérez-Abud, R., Morón Jiménez J., Ayala A. (2009) Efectos del consumo de aceites termo-oxidados sobre la peroxidación lipídica en animales de laboratorio. Nutr. Hosp. 24(4):473-478.

Tipo y tamaño de las jaulas utilizadas en el proyecto, indicando cantidad de animales alojados y su edad.

20 jaulas de 40 x 30 cm. Se alojará un animal por jaula. Se comenzará la experiencia cuando los mismos tengan 6 semanas de vida.

Se emplearán dos tipos de jaula: de aluminio y policarbonato.

Duración del proyecto con animales (fecha de inicio y finalización):

20 semanas.

Fecha de inicio: 29 de agosto de 2017

Fecha de finalización: 18 de enero de 2018

¿Cuenta con soporte veterinario o técnico calificado?

	No
x	Si

Veterinaria: **María Celia Mora**

PROYECTO- TITULO:

Formulación de Queso Mozzarella a base de Leche de Cabra con adición de Fitoesteroles

Objetivos de los Experimentos:

El objetivo general de este experimento es estudiar el efecto del queso mozzarella a base de leche de cabra, adicionado con fitoesteroles, sobre los parámetros fisiológicos en un modelo experimental de síndrome metabólico inducido por manipulación dietaria.



Universidad Nacional de Salta
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

AV. BOLIVIA 5150 – A4408FVY SALTA
REPUBLICA ARGENTINA
TELEF. (0387) 4255404/330/332
TELEF. FAX (0387) 4255456



RESOLUCION -CD- N°

286-18

Salta, 25 ABR 2018
Expediente N° 12.519/17

ANEXO I

Fundamentos y propósito del proyecto, sus beneficios científicos o valor docente previsto:

A nivel mundial, son aproximadamente 17 millones las personas que mueren cada año por causas como el infarto agudo de miocardio (IAM) y el accidente cerebrovascular (ACV), y estos sucesos tienen una directa relación con la hipercolesterolemia, al incrementar el riesgo de padecer este tipo de episodios coronarios (Romero Palacio y Vásquez Trespalcios, 2012).

En la Argentina, las Enfermedades Crónicas No Transmisibles (ECNT) explican más del 60% de las muertes, y particularmente la Enfermedad Cardiovascular (EC) se asocia a una elevada morbilidad, reduciendo los años de vida en un 16% (Ministerio de Salud, 2011). Es por ello, que nuestro país implementa el Programa Nacional de Prevención de Enfermedades Cardiovasculares que propone como lineamientos estratégicos la promoción de alimentos procesados saludables y la priorización en áreas de investigación relacionadas (Ministerio de Salud, 2011).

En este sentido, la investigación científica, la innovación tecnológica y la actual tendencia hacia lo saludable revolucionaron la industria alimenticia con el nuevo concepto de *Alimentos Funcionales* (AF) (Millone, Olagnero y Santana, 2011). Actualmente, se puede definir como AF a los “productos con ingredientes capaces de producir efectos saludables, cuya elaboración no sólo contempla su calidad nutricional, sensorial y tecnológica, sino que también aportan componentes bioactivos que contribuyen al bienestar del consumidor y/o previenen el desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles” (Guangchang, Junbo, Qingsen y Zhihe, 2012; Morán, 2012). Dentro de estos componentes, se destacan los fitoesteroles, a los cuales se les atribuyen efectos fisiológicos como su capacidad hipocolesterolemizante. Esto se debe a que en la luz intestinal, los esteroides desplazan por competencia al colesterol, por lo cual no puede ser absorbido y es eliminado con las heces. Los esteroides vegetales presentan escasa absorción en el intestino, también liberándose de la micela en el momento de la transferencia por transporte activo de los ácidos grasos y monoglicéridos siendo finalmente excretado con las heces (Marangoni y Poli, 2010). Es por ellos que una de las acciones dirigidas a controlar los niveles de colesterol plasmático, consiste en recomendar la ingesta de fitoesteroides (Romero Palacio y Vásquez Trespalcios, 2012).

El consumo de 1 – 3 g/día de esteroides vegetales logra disminuir el colesterol LDL en un 10 %, y 2 g/día con una dieta baja en grasas saturadas lo reduce hasta en un 15 % (Romero Palacio y Vásquez Trespalcios, 2012). La Unión Europea sugiere que un consumo regular de un mínimo de 2 g/día de fitoesteroides añadidos a alimentos tales como margarinas para untar, productos lácteos y aderezos, reducen un 7-10,5% las concentraciones sanguíneas



Universidad Nacional de Salta FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

AV. BOLIVIA 5150 – A4408FVY SALTA

REPUBLICA ARGENTINA

TELEF. (0387) 4255404/330/332

TELEF. FAX (0387) 4255456



RESOLUCION -CD- N°

286-18

25 ABR 2018
Salta,
Expediente N° 12.519/17

ANEXO I

de colesterol LDL (Unión Europea, 2010).

Por otro lado, la leche de cabra se caracteriza porque los valores de α 1-caseína, principal responsable de respuestas inmunológicas perjudiciales, son muy bajos, pudiendo ser consumida por personas que presentan intolerancia a la proteína de leche de vaca (Minervini, Bilancia, Siragusa, Gobetti y Caponio, 2009). Con respecto a la grasa, el 80% de los glóbulos miden menos de 5 micras, lo que se traduce en una mayor digestibilidad; también contiene una mayor proporción de ácidos grasos de cadena media (Minervini et al., 2009), que desde el punto de vista tecnológico se traduce en la textura más suave de sus subproductos (Silanikovea, Leitnerb, Merinc y Prosserd, 2010). En general, el consumo de leche de cabra y sus derivados, se asocia con efectos beneficiosos para la salud que van más allá de su valor nutricional intrínseco, sirviendo también como matrices para vehiculizar ingredientes funcionales (Silanikovea et al., 2010).

El Queso Mozzarella es el producto que se obtiene por hilado de una masa acidificada, complementada o no por la acción de bacterias lácticas específicas. De acuerdo a su contenido de materia grasa, se clasifican en Extra graso, Grasos y Semigrasos (C.A.A., Capítulo VIII, Artículo 618; ANMAT, 2006), y de acuerdo a su contenido de Humedad de Mediana, Alta o Muy Alta (C.A.A., Capítulo VIII, Artículo 605; ANMAT, 2006).

Se estudió la factibilidad de formular un queso mozzarella a base de leche de cabra, y se determinó su composición química. El rendimiento quesero fue de 7,23%. La composición química del queso, a los cinco días, fue: humedad: 48, grasas: 13, proteínas: 33, cenizas: 0,97g%; calcio: 635 y fósforo: 519mg%. El producto se califica como de Alta Humedad, Magro, resultando en una pasta blanda color blanco brillante de aroma típico. Se concluyó que la leche usada presentó adecuada aptitud al procesamiento de la Mozzarella, pero se sugirió mejorar el rendimiento (Paz, Armada y Ramón, 2012).

Con respecto a los fitoesteroles, se evaluó su incorporación en dietas de ratas sanas, que fueron divididas en Grupo Estándar con dieta alta en grasa (HF) y Grupo con dieta alta en grasa más 2% de fitoesteroles (HP). Los grupos que recibieron suplementos mostraron una reducción significativa del tejido adiposo en la región retroperitoneal y del epidídimo, además de la disminución de peso, en comparación con el grupo HF (Cibele Priscila Busch Furlan y Castro Marques, 2013).

Por todo lo expuesto, resulta innovadora la formulación de un producto que tiene propiedades benéficas en todos los ingredientes que lo componen. Nuestro país no dispone de un queso mozzarella semidescremado a base de leche de cabra con adición de fitoesteroles, y mucho menos tiene antecedentes de estudios que permitan evaluar dosis del fitoquímico y el éxito de su agregado a alimentos.



Universidad Nacional de Salta
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

AV. BOLIVIA 5150 – A4408FVY SALTA
REPUBLICA ARGENTINA
TELEF. (0387) 4255404/330/332
TELEF. FAX (0387) 4255456



RESOLUCION -CD- N° 286-18

Salta, 25 ABR 2018
Expediente N° 12.519/17

ANEXO I

Procedimientos Experimentales:

- a. **Describa en forma breve los procedimientos experimentales que serán realizados en los animales y con qué frecuencia. Disponibilidad o adecuación de los procedimientos que causen el menor daño o sufrimiento posible.**

Durante el tiempo que dure la experimentación, los animales serán sometidos a dietas experimentales.

Los requerimientos nutricionales de los roedores fueron establecidos por el Instituto Americano de Nutrición, se denomina AIN 93 y los valores correspondientes se observan en Anexo I. Así mismo se brindará mezclas de vitaminas (Anexo II) y minerales (Anexo III) establecidas específicamente para estos animales.

Diariamente se controlará agua y comida. Se mantendrá un registro de consumo diario de alimentos.

Los animales se dividirán aleatoriamente en 4 grupos (Tabla 1), un grupo recibirá una dieta normal (control), en los otros grupos se les dará una dieta para obtener un modelo experimental de síndrome metabólico (SM) con la administración de una solución de fructosa al 10 % en reemplazo del agua de bebida e incorporación en dieta de grasa saturada al 20 %. Al cabo de 3 semanas, a los grupos con SM inducido se administrará dietas conteniendo queso mozzarella con fitoesteroles. Para el presente estudio se ensayarán dos concentraciones de fitoesteroles: 3,33 y 6,66 g%/ 100 g de alimento.

	Primeras 3 semanas	Semana 4 - 6
Grupo 1:	Dieta control	Dieta control
Grupo 2:	Dieta Rica en grasas	Dieta control
Grupo 3:	Dieta Rica en grasas	Dieta 1
Grupo 4:	Dieta Rica en grasas	Dieta 2
Grupo 5:	Dieta Rica en grasas	Dieta 3

Tabla 1: Grupos

Los requerimientos nutricionales (proteínas, carbohidratos y lípidos) se cubrirán con caseinato, maicena y aceite de maíz, a los que se les incorporará las mezclas de minerales y vitaminas.



Universidad Nacional de Salta

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

AV. BOLIVIA 5150 – A4408FVY SALTA
REPUBLICA ARGENTINA
TELEF. (0387) 4255404/330/332
TELEF. FAX (0387) 4255456



RESOLUCION -CD- N° 286-18

25 ABR 2018
Salta,
Expediente N° 12.519/17

ANEXO I

La Tabla 2 describe la composición de la dieta control, la dieta hipercolesterolémica y las dietas 1 y 2 conteniendo diferentes cantidades de fitoesteroles para 100 g de queso mozzarella a base de leche de cabra.

Se realizará monitoreo de peso cada semana, se utilizará una balanza marca KERN EG/EW de 300 gramos de capacidad. La rata será colocada en un inmovilizador para proceder a la toma de peso.

Tabla 2. Composición de las dietas

Composición	Dieta Control AIN 93 M	Dieta rica en grasa	Mozzarella (100 g)	Dieta 1		Dieta 2		Dieta 3	
				Composición	Agregar	Composición	Agregar	Composición	Agregar
				Mozzarella Patrón		Mozzarella Fito 3,33 g%		Mozzarella Fito 10 g%	
Proteínas	12,8	12,8	28	12,8	0	12,8	0	12,8	0
Grasas	9,7	20 grs vacuna	25	11,2	0	14,53	0	17,86	0
H de C	77,5	67,2	0	0	76	0	76	0	76
Mineral Mix AIN 93 M	35	35	35	-	35	-	35	-	35
Vitamin Mix	10	10	10	-	10	-	10	-	10
L-cistyne	1,8	1,8	1,8	-	1,8	-	1,8	-	1,8
Choline Bitartrate	2,5	2,5	2,5	-	2,5	-	2,5	-	2,5
T-butyl-hydroquinone	0,008	0,008	0,008	-	0,008	-	0,008	-	0,008

Determinaciones: las mismas se realizarán en sangre obtenida por corte de cola.

Para la toma de muestras, en cada momento de análisis, las ratas serán privadas de alimentos durante la noche anterior y mantenidas únicamente con agua ad libitum. Para realizar las extracciones de sangre, los animales serán previamente anestesiados mediante vapor de isoflurano (algodón empapado con 0,5 ml) en una cámara individual de vidrio.



Universidad Nacional de Salta
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

AV. BOLIVIA 5150 – A4408FVY SALTA
REPUBLICA ARGENTINA
TELEF. (0387) 4255404/330/332
TELEF. FAX (0387) 4255456



RESOLUCION -CD- N°

286-18

25 ABR 2018

Salta,
Expediente N° 12.519/17

ANEXO I

Una vez dormidas, se les realizará un corte de entre 1-2 mm del extremo de la cola, en un ángulo de 45 °. Las muestras se obtendrán por goteo, y serán recepcionadas en tubos eppendorf estériles, conteniendo en sus paredes heparina como anticoagulante. Se centrifugará a 3.000 rpm durante 10 minutos, para separar el suero de los elementos formes. Finalmente, se mantendrán a temperatura de refrigeración (4 ± 1 °C) hasta el momento de su análisis bioquímico. Los controles realizados a los animales luego de la extracción, incluirán mantener presionada la cola hasta la detención del sangrado, y recuperación de su total vitalidad (movilidad dentro de la jaula, consumo de agua y alimento, y acicalamiento).

En suero se determinará:

- Glucemia
- Colesterol Total
- Lipoproteínas de Alta Densidad (HDL)
- Lipoproteínas de Baja Densidad (LDL)
- Triglicéridos
- GOT
- GPT

Estos se realizarán el 1º día de las semanas:

2: Día previo al comienzo del tratamiento

11: día posterior al tratamiento con la dieta rica en grasas

20: día posterior al tratamiento con la dietas de queso mozzarella con fitoesteroles.

- En lo posible indique si existen publicaciones con referato internacional donde el/los modelos o el/los procedimientos experimentales hayan sido aprobados por comités de ética institucionales.**
- Mencione el lugar físico donde se llevarán a cabo las maniobras experimentales previstas**
- Se llevarán a cabo en el bioterio, en sección de trabajo**
- Enumere las maniobras y cuidados posteriores de los procedimientos experimentales**



Universidad Nacional de Salta
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

AV. BOLIVIA 5150 – A4408FVY SALTA
REPUBLICA ARGENTINA
TELEF. (0387) 4255404/330/332
TELEF. FAX (0387) 4255456



RESOLUCION -CD- Nº **286-18**

25 ABR 2018
Salta,
Expediente Nº 12.519/17

ANEXO I

- f. Luego de las maniobras experimentales los animales vuelven a sus cajas para continuar con el tratamiento.
- g. Mencione los métodos de apareo y crianza, incluyendo: selección de y edad de los reproductores, edad de destete, etc.
No corresponde

PROCEDIMIENTOS A REALIZAR CON LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACION:

METODO	SI	NO
Restricción de agua y/o alimento		x
Catéter, intubación		x
Modificación de conducta		x
Inoculación de microorganismos		x
Procedimientos de cirugía c/recuperación		x
Estudios DL50		x
Restricción prolongada + 8 horas		x
Producción de anticuerpos monoclonales		x
Producción de anticuerpos policlonales		x
Procedimientos de cirugía s/recuperación		
Extracción de sangre ¹	x	
Toma de muestras de tejidos ²		x

1. En caso de respuesta afirmativa a "Extracción de Sangre" completar:

a. Fase del procedimiento:	Al final de cada tratamiento (tres veces)
b. Lugar de extracción:	Extremo de la cola
c. Cantidad a extraer:	1,5 ml

2. En caso de respuesta afirmativa a "Toma de muestras de Tejidos" completar:



Universidad Nacional de Salta
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

AV. BOLIVIA 5150 – A4408FVY SALTA
REPUBLICA ARGENTINA
TELEF. (0387) 4255404/330/332
TELEF. FAX (0387) 4255456



RESOLUCION -CD- Nº **286-18**

25 ABR 2018
Salta,
Expediente Nº 12.519/17

ANEXO I

Se colocará en una jaula con viruta y una lámpara para calentar la cola entre 10 a 15 minutos, luego el animal se aplicará anestesia por inhalación (isoflurano) se colocará en un dispositivo de inmovilización adaptado para la rata, adecuado para la especie, se

lavará la cola de cualquier resto de heces u orina y aplicará etanol al 70% dejándolo evaporar, se situará la cola sobre una superficie plana y limpia y cortará perpendicularmente con una hoja estéril de bisturí. Se cambiará la hoja entre animales.

Se aplicará una suave presión proximalmente al corte y recogerá la sangre en tubos con heparina.

a. Fase del procedimiento:	Al finalizar la investigación
b. Lugar de extracción:	Laboratorio de bioterio
c. Cantidad a extraer:	2 gramos

Administración de drogas, tóxicos, u otras sustancias durante el procedimiento experimental

	SI	NO	Droga	Dosis	Vía	Frecuencia de Administración
Anestésicos	x		Isoflurano	200 µl/l de cámara	inhalación	3 veces
Analgésicos		x				
Sedantes		x				
Otros						

Los animales serán eutanasiados?	Si	x	No	
Método de eutanasia utilizado	La eutanasia se realizará en cámaras con liberación gradual de dióxido de carbono			

[Firma manuscrita]



Universidad Nacional de Salta
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

AV. BOLIVIA 5150 – A4408FVY SALTA
REPUBLICA ARGENTINA
TELEF. (0387) 4255404/330/332
TELEF. FAX (0387) 4255456



RESOLUCION -CD- N°

286-18

Salta, 25 ABR 2018
Expediente N° 12.519/17

ANEXO I

Elección del momento de aplicación de eutanasia como punto final del experimento.
Los animales después de la administración de dieta rica en grasas habrán desarrollado el síndrome metabólico. Los cambios inducidos por la dieta podrán confirmarse luego del último análisis.

Disposición de los restos:

- Residuos Patológicos x
- Freezer
- Incineración
- Otros

Riesgos para el personal o para la población animal del Bioterio:

INSTRUCCIONES PARA EL PERSONAL TÉCNICO DE LA FCS A CARGO DEL CUIDADO DE LOS ANIMALES:

Animales Enfermos		Animales Muertos		Problemas Técnicos	
Llamar al investigador	x	Llamar al investigador	x	Llamar al investigador	x
Sacrificar los animales		Enviar al laboratorio		Llamar al taller	
Enviar al laboratorio		Enviar a incineración			

USO DE AGENTES PELIGROSOS:

Agente	S	N
	i	o
Infeciosos		x
Radioisótopos		x
Carcinógenos		x
Tóxicos químicos		x
Tóxicos biológicos		x
O t r o s (especificar)		

En caso afirmativo, indicar:

[Firma manuscrita]



Universidad Nacional de Salta
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

AV. BOLIVIA 5150 – A4408FVY SALTA
REPUBLICA ARGENTINA
TELEF. (0387) 4255404/330/332
TELEF. FAX (0387) 4255456



RESOLUCION -CD- N° **286-18**

25 ABR 2018
Salta,
Expediente N° 12.519/17

ANEXO I

Agente	Vía de administración	Volumen final	Concentración

(Agregue las filas que sean necesarias)

17- SUPERVISIÓN DE LOS ANIMALES

Describir aquellas fases del procedimiento en el que se prevea que el animal puede experimentar alteraciones del bienestar, dolor o angustia. Detallar el protocolo de supervisión que se utilizará para detectar estas alteraciones, dolor o angustia.

Se considerará punto final el momento en el que el animal presente modificaciones de importancia de sus signos vitales y/o comportamiento que comprometan su bienestar. Se prevé que procedimientos que se realizará serán de categoría leve a moderada debido a que se aplicará una dieta modifica que cubre las necesidades de proteínas, minerales y vitaminas, pero si alta en hidratos de carbono simples y grasa, por lo que se prevé que no cause manifestaciones clínicas severa si no una moderada dislipemia (hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia). La extracción de sangre será menor al 10 % del volumen circulante y se realizará 3 veces durante la experimentación (al inicio, 60 días después y al final del procedimiento). Previo a la extracción de sangre se retirará la alimentación por 10 horas. Si por algún motivo lo animales presentan alteraciones importantes de sus signos vitales y/o comportamientos de su bienestar se considerará como punto final.

Procedimiento	Inicio de la supervisión	Duración	Frecuencia de la supervisión
Aplicación de dieta	Aplicación de dieta	Aplicación de dieta	Todos los días se observará para detectar modificaciones en el comportamiento de los animales, registrando si se observa comportamientos anormales.
Ayuno previo a la	Ayuno previo a la	Ayuno previo a la	Desde las 8 de la mañana del día de la extracción y mientras dura el proceso de extracción de sangre.
Recuperación luego	Recuperación luego	Recuperación luego	Desde la extracción de sangre se realizará cada 2 horas luego de la extracción de sangre

El cumplimiento del presente Protocolo será de total responsabilidad del Investigador Responsable, así como del Grupo involucrado.



MGS. EUGENIA MARIA VILLAGRAN
SECRETARIA DE POSGRADO, INVESTIGACIÓN
Y EXTENSIÓN AL MEDIO
FAC. DE CIENCIAS DE LA SALUD - UNSa



LIC. MARIA SILVIA FORSYTH
DECANA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD - UNSa