

# A DE LABORATORIO ANIMALES S

REVISTA DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA PARA LAS CIENCIAS DEL ANIMAL DE LABORATORIO

## 1 NOTICIAS DE SECAL

- NOTICIAS BREVES

## 2 ARTÍCULOS

- DIRECCIONES FUTURAS EN EL CONTROL DE PATÓGENOS DE ROEDORES
- TRANSGÉNESIS POR MICROINYECCIÓN. GESTIÓN DE COLONIAS

## 3 NOTICIAS DE INTERÉS

- VALIDACIÓN DE DOS MÉTODOS ALTERNATIVOS: CORROSIÓN CUTÁNEA Y FOTOTOXICIDAD
- NOTICIAS / DIRECCIONES DE CARACTER INTERNACIONAL

## 4 LIBROS Y CONVOCATORIAS

## 5 VARIOS



**H  
A  
R  
L  
A  
N**

*Ayudando a la investigación a  
responder al desafío a nivel mundial*



## EL PERSONAL CUIDADOR: LOS GRANDES OLVIDADOS

*En la última Junta de Gobierno de la SECAL (enero, 2002) se puso de manifiesto la necesidad de potenciar y reconocer las tareas que realizan los técnicos que están más cercanos al animal: los cuidadores.*

*Otras instituciones internacionales ya han desarrollado medidas para motivar y potenciar a estos técnicos. El IAT (the Institute of Animal Technology, [www.iat.org.uk](http://www.iat.org.uk)), en Inglaterra, tiene un registro de técnicos vinculados al animal de laboratorio (animal technicians) establecido desde 1985 con la finalidad de demostrar a la opinión pública, a los responsables de centros de investigación y a las autoridades legales, el alto nivel ético y elevada cualificación de este tipo de personal. Para acceder al registro se valora la formación, la experiencia y la predisposición en el cuidado de los animales.*

*La AAALAC international (Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care, [www.aaalac.org](http://www.aaalac.org)) como organización internacional que acredita centros en los que se realizan procedimientos experimentales con animales, valora muy especialmente la formación y experiencia de los cuidadores en aspectos relacionados con el bienestar animal.*

*En este sentido, el editorial del número de septiembre de Lab Animal Europe lleva por título: El mejor enriquecimiento ambiental lo realizan los cuidadores (Lab Animal Europe, vol 1, N<sup>o</sup>8, 2002) haciendo también hincapié en la responsabilidad del cuidador en temas relacionados con bienestar animal.*

*Como último ejemplo tenemos a la AALAS (American Association of Laboratory Animal Science, [www.aalas.org](http://www.aalas.org)) que a partir de la celebración, el pasado febrero, de la Semana Internacional de los técnicos que trabajan con animales (International Animal Technician Week) sugiere una serie de medidas para reconocer la tareas de estos técnicos: potenciar el acceso a grupos de opinión (TechLink), favorecer la visita de páginas web relacionadas con su trabajo, contactar con personal de otros centros, establecer premios al trabajo (el mejor técnico del mes) o facilitar su participación en programas de formación continuada.*

*La SECAL está muy sensibilizada con este tema y ya se han realizado varias reuniones para discutir, entre otros aspectos, cómo facilitar a los cuidadores el acceso a cursos de formación. Para conocer cuáles son las necesidades de formación se realizará una encuesta en la que se recogerán los principales temas de interés para la realización de dichos cursos. En la misma encuesta, se recogerán las distintas localizaciones geográficas del personal cuidador con el fin de que desde la SECAL podamos organizar los cursos o seminarios de forma más conveniente para todos los centros (dos tardes a la semana, una semana completa...etc). Esperamos obtener un gran número de repuestas.*

**JUNTA DE GOBIERNO  
DE LA SECAL**
**PRESIDENTE:**

Jordi Cantó Martorell  
U. Autónoma de Barcelona  
Fax: 93 581 25 88  
[jordi.canto@uab.es](mailto:jordi.canto@uab.es)

**VICEPRESIDENTE:**

José María Orellana Muriana  
Centro Experimentación Animal  
U. Alcalá de Henares  
Fax: 91 585 47 54  
[cea@uah.es](mailto:cea@uah.es)

**SECRETARIA:**

Nieves Salvador Cabos  
Instituto S. R. Cajal. Madrid  
Fax: 91 585 47 54  
[nieves@cajal.csic.es](mailto:nieves@cajal.csic.es)

**VICESECRETARIO:**

Luis Muñoz de la Pascua  
Servicio Experimentación Animal  
Universidad de Salamanca  
Fax: 923 29 46 69  
[imp@usal.es](mailto:imp@usal.es)

**TESORERA:**

Gloria Lete Vergara  
Facultad Medicina y Odontología  
UPV/E.H.V.  
Fax: 94 464 81 52  
[lmzleveg@la.ehu.es](mailto:lmzleveg@la.ehu.es)

**VICE TESORERA:**

Pilar Bringas de la Lastra  
Facultad de Medicina  
Universidad Complutense. Madrid  
Fax: 91 394 12 28  
[cai.animalario@med.ucm.es](mailto:cai.animalario@med.ucm.es)

**VOCALES:**

Pilar Cinca Gimeno  
Javier Guillén Izco  
Jesús Martín Zúñiga  
Rosa María Morales La Muela  
Fernando Núñez Martín  
Joana Visa i Esteve  
Jorge Zapatero Lorenzo

**SOC. BENEFACTORES:**

BEDCO S.C.P.  
BIOSIS S.L.  
CIBERTEC  
CONFECCIONES ANADE  
CRIFFA  
DIVERSEY LEVER  
FAGESA S.A.  
GRANJAS S. BERNARDO  
HARLAN IBERICA S.A.  
ISOQUIMEN  
JANVIER ESPAÑA S.L.  
OXIDINE  
PANLAB S.A  
RUBILADOR  
SOURALIT  
STERIS-FINACUA  
WORLD-COURIER

# JUNTA DE GOBIERNO

## RESUMEN DE LA ÚLTIMA JUNTA ORDINARIA CELEBRADA EL 25 DE ENERO DE 2002.

### 1. Informe de presidencia

• El Presidente felicita a los organizadores del último Congreso celebrado en Zaragoza, y agradece a todos los candidatos que se presentaron a las elecciones su participación, animándolos a seguir trabajando para la Sociedad.

• La designación de cargos de la Junta de Gobierno queda como sigue, tras la dimisión de Dña María Neus Prats Costa :

Presidente:	Jordi Cantó i Martorell
Vicepresidente:	José María Orellana Muriana
Secretaria:	Nieves Salvador Cabos
Vicesecretario:	Luis Muñoz de la Pascua
Tesorera:	Gloria Lete Vergara
Vicetesorera:	Pilar Bringas de la Lastra
Vocales:	Pilar Cinca Gimeno (relaciones con los socios de SECAL y SECAL-L) Javier Guillén Izco (relaciones internacionales) Jesús Martín Zúñiga (comunicación) Rosa Morales Lamuela (formación y docencia) Fernando Núñez Martín (fondo documental) Joana Visa i Esteve (formación y docencia) Jorge Zapatero Lorenzo (formación y docencia)

### Información para los autores

La revista *Animales de Laboratorio* publicará trabajos relacionados con cualquier aspecto del uso de animales de laboratorio, y anima especialmente a la publicación de datos y observaciones obtenidos en instalaciones de producción y mantenimiento de animales, así como todas aquellas propuestas y experiencias que puedan contribuir a mejorar la calidad en la investigación y al bienestar animal, y favorecerá la publicación de trabajos realizados por sus miembros y aún más si son autores noveles.

La responsabilidad sobre la veracidad de los datos publicados corresponderá a los autores de los mismos. *Animales de Laboratorio* no se hace tampoco responsable de las opiniones vertidas por los autores de los artículos ni su publicación indica, necesariamente, que se esté de acuerdo con las mismas.

Los trabajos deben enviarse al Editor de la revista: Manuel Moreno mediante correo electrónico a la dirección: [m.moreno@cib.csic.es](mailto:m.moreno@cib.csic.es), o disquete informático al Centro de Investigaciones Biológicas, Velázquez 144. 28006 – MADRID

## 2. Informe de tesorería. Autorización de apertura de cuenta para el Congreso de San Sebastián. Autorización de la firma.

• Dña. Gloria Lete Vergara expone el informe financiero favorable de la Sociedad. Aunque todavía queda por cerrar la cuenta abierta a nombre del Congreso de Zaragoza y no se ha realizado la transferencia relacionada con el contrato de la traducción del libro de Van Zutphen, se han realizado las gestiones pertinentes para autorizar la apertura de una cuenta bancaria en la Caja Laboral a nombre del VII Congreso de la SECAL. Asimismo, recomienda que el cobro de la cuota de los socios de SECAL, se realice a primeros de año.

## 3. Planificación y calendario de fechas para los cursos de formación previstos en el año 2002.

• La vocalía de formación y docencia queda constituida por: Dña. Rosa Morales Lamuela, Dña. Joana Visa i Esteve y D. Jorge Zapatero Lorenzo, actuando éste último como coordinador. Entre otros temas trabajará en la realización de cursos o jornadas enfocados directamente a técnicos de animalario, parcial o totalmente subvencionados.

• D. Jesús Martínez Palacios ha informado a la Junta de la próxima realización del curso: “Criopreservación de gametos y embriones de ratón” que se desarrollará del 22 al 25 de abril, en el CIEMAT organizado por la SECAL y sobre la posibilidad de realizar un curso de identificación genética en animales a finales de año.

## 4. Convenio Europeo ETS 123. Reunión enero 2002. Situación actual del Convenio.

D. José María Orellana Muriana informó que la revisión del artículo 5 se está realizando por especies. Ya han sido aprobadas, por los grupos de trabajo, la parte general, roedores y conejos, perros y gatos, aunque todavía faltan por revisar y aprobar los hurones, primates no humanos, animales de granja, aves, anfibios, reptiles y peces. Los primates se revisarán nuevamente para incluir las condiciones en que deben mantenerse cuando sean viejos.

Si no existe ningún retraso, se aprobarán en octubre de este año las partes revisadas, aunque el documento final no esté terminado presumiblemente hasta el año 2004.

## 5. Relaciones de SECAL con el Ministerio de Ciencia y Tecnología y con el Ministerio de Agricultura.

D. Ignacio Álvarez Gómez de Segura y D. José María Orellana Muriana, están colaborando con los Ministerios mencionados. D. Jordi Canto i Martorell elaborará una carta de presentación de la Sociedad, para demostrar que su sentir es mayoritario en nuestra Sociedad, justificar el borrador presentado y ofrecer nuestra total colaboración.

## 6. Relaciones de SECAL con otras Sociedades. FELASA, CBCAL, ESLAV

• FELASA: D. Javier Guillén Izco, informa sobre la reunión del día 24 de noviembre de 2001, donde se renovaron los cargos de Secretario y Vicepresidente de Relaciones Públicas, siendo elegido como Secretario de FELASA nuestro representante D. Javier Guillén Izco. Tras la elección queda únicamente Dña. Patri Vergara Esteras como representante de SECAL, aconsejando proponer otro candidato al finalizar el año. En esa misma reunión, se decidió continuar con la preferencia de organizar Congresos cada tres años y se revisó la situación de los grupos de trabajo. En el grupo Refinement of Breeding and Use of Genetically Modified Rodents ha sido aceptada Dña. Belén Pintado Sanjuanbendito, candidato propuesto por SECAL. El grupo de trabajo Accreditation of Courses se va a constituir como Comité de Acreditación, SECAL propone como candidata a Dña. Patri Vergara Esteras.

• CBCAL: Dña. Pilar Cinca Gimeno informa sobre la Comisión de Biólogos para las Ciencias del Animal de Laboratorio (CBCAL), que se constituyó en el Colegio de Biólogos de Cataluña a finales del año 2000, de la carta de presentación enviada al Presidente de la SECAL y de las actividades que están desarrollando.

• ESLAV: D. Ignacio Álvarez Gómez de Segura solicita que la Junta proponga un representante nacional. La Junta propone a Dña. Nieves Salvador Cabos.

## 7. Próximo Congreso AALAS/ICLAS en octubre de 2002. Participación-colaboración de SECAL.

D. José María Orellana Muriana informa que Laboratory Animals Ltd. ha solicitado la presencia de un miembro de nuestra Sociedad para colaborar con ellos en su stand. A su vez, nos ceden parte del stand para difundir el material de SECAL. La Junta de Gobierno propone a D. José María Orellana Muriana, para asistir a dicho Congreso y a D. Manuel Moreno Calle como suplente, en el caso que aquel no pudiera asistir.

## 8. Laboratory Animals. Traducciones al español.

D. José María Orellana Muriana informa que tras revisar los artículos más visitados, se decide la traducción de la monografía sobre: "Refinamiento de los procedimientos para la administración de sustancias".

## 9. Ruegos y preguntas.

- D. Jesús Martínez Zuñiga solicita la participación como colaboradora de Dña. Ana Macías Cadavid, miembro de SECAL en la articulación del "gabinete de prensa" y que las personas que tengan acceso a la información, si tienen algún tipo de documentación, se la pasen directamente para agilizar una posible contestación.
- Se decide la contratación de una persona para la actualización continuada de la página web.
- D. Ignacio Álvarez Gómez de Segura redactará un anuncio que se difundirá tanto en SECAL-L como en la revista de la Sociedad a fin de poder repartir el CD sobre validación del dolor en la rata, entre los asistentes al taller de dolor realizado en el Congreso de Zaragoza.

*Nieves Salvador Cabos*  
SECRETARIA DE SECAL



## LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO GENERAL

LABORATORIO DE ENSAYOS - ESTUDIOS DE RESIDUOS

INSPECCIONES Y TOMA DE MUESTRAS - IMPLANTACIONES SISTEMAS ISO 9000 · ISO 14000 · EMAS

ADecuación y EVALUACIONES MEDIOAMBIENTALES LEY 3/98 IIAA

PROYECTOS CON TRATAMIENTO ESTADÍSTICO ESTUDIOS MULTICÉNTRICOS Y DE EFICACIA

Tels. 93 217 38 40 · 93 217 35 80 · Fax 93 415 10 44 · [ldg@ldggrup.com](mailto:ldg@ldggrup.com) · [ldggrup.com](http://ldggrup.com)

**ACREDITACIONES:** Generalitat de Catalunya: Junta de Sanejament, Departament de Sanitat i Seguretat Social, Direcció General de Producció i Indústries Agroalimentàries. Laboratorio Agroalimentario y Servei de Protecció a la Qualitat Agroalimentària. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Ministerio de Sanidad y Consumo.





# Noticias de la SECAL

## NOTICIAS BREVES

### Convenio Europeo ETS 123 sobre alojamiento de animales

El pasado mes de enero se celebró en el Consejo de Europa en Estrasburgo (Francia), una nueva reunión del grupo de trabajo que está revisando el Convenio Europeo ETS 123 sobre las condiciones de alojamiento de los animales durante la experimentación, en el que SECAL tiene un miembro como parte de la delegación Española. El Consejo de Europa está formado por 43 países y en las reuniones, además de estar presentes delegados de muchos de ellos, asisten representantes de las federaciones de sociedades científicas europeas relacionadas con el animal de laboratorio, y además, como invitados, un representante de USA y otro de Canadá. Después de 4 días de reuniones se logró dejar terminada la parte general y los apéndices sobre roedores, conejos, perros y gatos para ser aprobados previsiblemente en octubre de este año. En esa nueva reunión se intentará dejar terminada la parte sobre primates y muy avanzados los apéndices sobre anfibios, reptiles, animales de granja y aves, además de empezar a ver la parte dedicada a peces. Si se lograra aprobar alguna de las partes terminadas, podría aplicarse inmediatamente.

### Revisión de la legislación Española

El 25 de Marzo se celebró una reunión entre miembros de la Subdirección General de Ordenación de la Explotaciones del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación y una delegación de la SECAL, para poner las bases de revisión y actualización de la legislación Española sobre experimentación animal. El Ministerio se ha mostrado muy receptivo a las inquietudes y necesidades del sector. La SECAL se muestra muy optimista con esta nueva situación.

### Laboratory Animals Ltd. y SECAL financian una nueva traducción al Español.

Está en proceso de traducción el artículo *Refining procedures for the administration of*

*substances*, publicado en enero de 2001 en la revista *Laboratory Animals*, será editado por SECAL y financiado por ambas partes. Se tiene previsto que se encuentre disponible en el stand de *Laboratory Animals/SECAL* durante el congreso de AALAS/ICLAS del mes de octubre en San Antonio, Tejas, USA.

### Participación de SECAL en el Congreso 2002 de AALAS/ICLAS.

Gracias a un acuerdo entre SECAL y *Laboratory Animals Ltd.*, el stand de ésta última instalado en el Congreso 2002 de AALAS/ICLAS o "Congreso de las Américas" será compartido por ambas partes, lo que permitirá la distribución de documentación de la SECAL de modo gratuito y la venta de los últimos libros en español editados por la Sociedad. En dicho stand se encontrará un miembro de SECAL para facilitar la comunicación con los asistentes hispanoparlantes.

### Formación de cuidadores

La Vocalía de Formación de la Junta de Gobierno de SECAL ha comenzado a preparar temarios para futuros cursos de formación de cuidadores. La idea, que ya había sido estudiada por la Junta, cobró nuevo impulso a partir del debate surgido en la línea de correo electrónico *Secal-I*. En este debate se planteaba la posibilidad de realizar cursos de cuidadores en todas las zonas de España donde hiciera falta, y a la vez se planteaba la posibilidad de que existiera una formación continuada de los cuidadores.

La Vocalía tiene previsto recabar la opinión de los socios y expertos, sobre los temas a tratar, a través de la citada Línea de correo. A la vez, esta consulta serviría para elaborar una especie de censo sobre el número y localización de este personal.

# 2 ARTÍCULOS

## DIRECCIONES FUTURAS EN EL CONTROL DE PATÓGENOS DE ROEDORES<sup>1</sup> DAVID G. BAKER

*David G. Baker; D.V.M., M.S., Ph.D., Dipl. ACLAM, es Director y profesor Asociado en la División de Medicina del Animal del Laboratorio, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad de Louisiana, Baton Rouge, Louisiana.*

*Traducido por Lola Beriso*

El uso de roedores de laboratorio es, y continuará siendo, esencial en investigación biomédica. De cualquier modo, como todos los seres vivos, los roedores del laboratorio tienen un "equipaje" asociado de otros organismos, pasajeros de pago, polizones silenciosos, amotinadores y piratas. En otras palabras, debemos esperar que los roedores del laboratorio tengan defectos de salud característicos. El campo de la ciencia del animal del laboratorio y la medicina trata, entre otras muchas cosas, de la comprensión y control de agentes patógenos, que son pequeños pero cohabitantes influyentes de los roedores del laboratorio. En esta breve presentación, repaso la historia del control de los patógenos de roedores y ofrezco mis expectativas de futuro en este campo. Finalmente, sugiero unas maneras prácticas en las que los científicos del animal del laboratorio pueden contribuir a la investigación biomédica y la mejora de sociedad por facilitar una mayor comprensión de los efectos de los microorganismos sobre los roedores del laboratorio.

### PERSPECTIVA HISTÓRICA

La lucha contra los patógenos de roedores del laboratorio ha sido revisado por Weisbroth (1996), quien aproximadamente dividió los últimos 100 años de investigación con animales de laboratorio en 3 períodos.

Durante el primer periodo de domesticación (de 1880 a 1950) muchas especies de roedores se introdujeron en los laboratorios desde el exterior. Su traslado a un ambiente interior, junto con las mejoras relacionada con el cuidado del animal de laboratorio resultó en una gran reducción en la distribución y prevalencia de los agentes patógenos, particularmente los que requieren hospedadores intermediarios u otros vectores y aquellos generalmente relacionados con un medio ambiente exterior.

El segundo periodo de derivación gnotobiótica (de 1960 a 1985; Weisbroth 1996) se destacó por el desarrollo de la ciencia y medicina del animal del laboratorio como resultado de la necesidad del control de las enfermedades del animal del laboratorio. Durante este periodo, se desarrolló la derivación por cesárea que facilitó la reducción y eliminación de varios agentes patógenos. Los avances en la cría de estos animales y una mejor realización de las diferentes técnicas contribuyeron a este fin.

El tercer período (de 1980 hasta hoy) ha sido el período de erradicación de los virus murinos (Weisbroth 1996). Durante este tiempo, determinados agentes patógenos han desaparecido o se han detectado con menos frecuencia. El examen de los patógenos descritos en los trabajos

<sup>1</sup>Traducción del artículo *Future Directions in Rodent Pathogen Control*, publicado en *ILAR Journal* Vol 39(4) 1998.

publicados en los últimos 20 años confirman esta tendencia (Baker 1998; Carthew y otros 1978; Lussier 1988).

La reducción en el número y carga de agentes patógenos se ha logrado principalmente mediante la realización de pruebas serológicas de anticuerpos frente a patógenos específicos (básicamente virus) y la eliminación o rederivación por cesárea de las colonias anticuerpo-positivas. Los adelantos continuos en los métodos de cría y al mayor conocimiento de la ciencia del animal del laboratorio también han contribuido a esta reducción.

Presentado de otra manera, estos tres periodos se pueden considerar períodos del animal muerto, del animal enfermo, y del animal seropositivo. Así, ¿cómo serán los próximos períodos? ¿Cual es la meta? ¿Que los roedores del laboratorio estén libres de todas las otras formas de la vida, ¿sería ideal o siquiera conveniente? ¿Cuánto de lo que se ha hecho necesita repetirse? Finalmente, ¿cual será el papel de la monitorización de la salud en el futuro? Permitámonos examinar brevemente la información en un intento de contestar estas preguntas.

## NUEVA PERSPECTIVA DE LA INFECCIÓN MICROBIANA

Ciertos microorganismos hallados en o sobre animales de laboratorio u otros animales han sido a menudo designados como patógenos, oportunistas o comensales, siendo los dos últimos grupos los más numerosos. Esta clasificación puede ser útil para algunos agentes, pero no es suficiente para el futuro. Como el tipo de microorganismo hallado en roedores del laboratorio continúa cambiando de oportunista o patógeno a supuesto comensal, sería apropiado reevaluar la pertinencia de las denominaciones tradicionales. En el futuro, los roedores mostrarán signos clínicos de infección con menos frecuencia y raramente morirán de enfermedad. Por ello nos deberíamos centrar en cómo pueden interferir en la investigación.

En un repaso reciente de los efectos de las infecciones microbianas en ratones y ratas de laboratorio se observan que existen un gran número alteraciones producidas por microorganismos, considerados en muchos casos, de tener patogenicidad despreciable (Baker 1998).

No estoy informado de ningún caso en que un microorganismo cese de ser un comensal verdadero, ni dañando ni beneficiando al hospedador, y empiece a ejercer algún efecto. La infección con adenovirus-2 del ratón ha sido asumida durante mucho tiempo como comensal. Sin embargo, evidencias recientes sugieren que puede afectar a la producción local de citoquinas (Einarsson and others 1996). Uno podría preguntar si la modulación de citoquinas es compatible con un estado comensal. Dada la influencia de las citoquinas en el sistema inmune (Weckmann y Alcocer-Varela 1996), parecería que esa modulación de citoquinas no sería completamente benigna e interferiría con objetivos de investigación. Igualmente, ratones con *Syphacia obvelata* se ha demostrado recientemente que interfieren con un modelo murino de autoinmunidad, aunque sea desconocida qué carga parasitaria se necesita (Agersborg and others 1998).

Otro caso difícil es el de *Staphylococcus aureus*, un habitante oportunista común de la piel, que puede afectar en gran medida a la fisiología del hospedador (Baker 1998). No se conoce a partir de qué cantidad o en que localización *S.aureus* empieza a ejercer efectos sobre el hospedador, incluso en la ausencia inicial de enfermedad clínica.

## MIRADA HACIA EL FUTURO

### Definiendo nuestras expectativas

Se pueden prever varios acontecimientos relacionados con los patógenos de ratones y ratas de laboratorio. En primer lugar los patógenos que han tenido una importancia histórica seguirán apareciendo, aparentemente de ninguna parte. Aunque tales apariciones pueden llegar a ser menos comunes que corrientemente son –continuando con la tendencia reciente– no debemos asumir que desaparecerán completamente.

Los roedores salvajes quedarán como reservorios de agentes infecciosos que, en ocasiones, accederán a las colonias de laboratorio debido a la entrada de animales contagiosos y/o de sus deyecciones en la instalación. Aunque podríamos estar en la parte asintótica de un gráfico teórico de "brotes" frente a "tiempo," la curva nunca cortaría el eje X en las colonias convencionales.

En segundo lugar, los efectos adicionales de microorganismos actualmente conocidos serán publicados cuando se encuentran nuevos usos en investigación para los animales del laboratorio tradicionales, se abran nuevos interrogantes, y se apliquen nuevas tecnologías a dichas interrogantes.

Como queda implícito, el campo de la biología de las citoquinas proporciona un ejemplo de cómo nuevas preguntas y las nuevas tecnologías revelan efectos microbianos previamente desconocidos. Como las células tienen un número finito de mecanismos de respuesta, la infección microbiana activará algunas respuestas genéricas. El examen de los efectos microbianos en mecanismos celulares y subcelulares corrientes probablemente proporcionará información valiosa sobre los propios mecanismos y de los propios microorganismos, al eliminarlos.

En tercer lugar nuevos microorganismos están siendo descubiertos y publicados. Weisbroth (1996) ha sugerido emplear el término "post-indígena" para describir un grupo de condiciones emergentes que comparten varios rasgos comunes tales como un reconocimiento reciente, una descripción pobre, un estado clínico inaparente o moderado, y (en algunos casos) origen humano (más que roedor). Aunque el término post-indígena puede dar la impresión de que muchos de estos microorganismos no se asociaron previamente con roedores de laboratorio, esta conclusión no es necesariamente exacta. Por supuesto, uno debe preguntarse por qué los microorganismos no se describieron antes. La razón puede no saberse nunca, pero podría estar parcialmente relacionada con papel potencial de los humanos como reservorios de algunos microorganismos recién descritos (Weisbroth 1996). Hay que considerar la transmisión de microorganismos de la especie humana a roedores puesto que ni el concepto ni las condiciones de esta transmisión son completamente nuevas ya que ambos se han asociado durante años. Muchos microorganismos, incluyendo coliformes, *S. aureus*, y otros, se sabe que colonizan a humanos y roedores. Es posible que con el aumento de la movilidad de la sociedad y los roedores del laboratorio, hayan ocurrido cambios sutiles en las poblaciones microbianas que colonizan a humanos, y éstos cambios se reflejen en las poblaciones microbianas de roedores del laboratorio. Esta materia merece atención y podría resultar una fértil área de investigación.

## IDENTIFICAR EL OBJETIVO DE LA ERRADICACIÓN DE MICROORGANISMOS

En lugar de proclamar dogmáticamente que el objetivo de la erradicación microbiana debería ser la eliminación de todo microorganismo de las colonias de roedores, definiendo que se deberían dirigir los esfuerzos hacia la definición de las necesidades de la investigación versus el estado microbiológico. No es realista pensar que se pueden excluir todos los gérmenes de las colonias animales sin recurrir a sistemas de barrera extremadamente caros, los cuales además no son seguros. Aunque tal manejo puede ser necesario para necesidades de investigación específica en períodos específicos, no es ni será generalmente necesario para dirigir investigaciones válidas, como se describe a continuación.

Sabemos que los animales axénicos son diferentes de los gnotobióticos o de cualquier otro tipo de animal que posea flora bacteriana (Heidt y Vossen 1992). La exclusión de todos los animales, excepto axénicos, para su uso en la investigación no es ni prudente ni económicamente factible. Para la mayoría de los propósitos de la investigación, los animales "aparentemente sanos" continuarán siendo adecuados. Sin embargo su validez se incrementa a medida que se define sus condiciones microbiológica.

## EVALUANDO LA UTILIDAD DE LOS DESCUBRIMIENTOS DEL PASADO

Algunos investigadores pueden sentir inquietud sobre la validez de anteriores trabajos y temer la potencial necesidad de repetir un gran número experimentos como consecuencia de las implicaciones de los nuevos descubrimientos. En la Facultad de Veterinaria se enseñaba que menos de la mitad de lo que se publicaba en la literatura científica era verdad. A pesar de la cifra actual, muchas razones forman la base de esta enseñanza, incluyendo infecciones no tenidas en cuenta. Ya sabemos que posteriores descubrimientos de los efectos de microorganismos, por ejemplo *Mycoplasma pulmonis*, han invalidado algunos resultados previamente descritos (NRC 1991).

La mejora del conocimiento es un suceso natural en ciencia, que se espera que continúe y se debe alentar. Nuevas preguntas, tecnologías y aproximaciones desafían continuamente el status quo.

Debemos querer aplicar estas técnicas a la cuestión de los efectos microbianos y no temer lo que hallaremos, tal como la necesidad a "repetir todo".

Deberían ser evidente por las ventajas producidas por la ciencia biomédica que mucho de lo que se ha publicado utilizando roedores de laboratorio ha sido útil y no necesita repetirse. De cualquier modo, debemos animar a considerar el status microbiológico en toda experimentación, y sobre todo en estudios sobre mecanismos celulares o subcelulares.

## PAPEL DE LOS PROGRAMAS DE MONITOREO SANITARIO

Aunque cada vez son menos los microorganismos que causan enfermedad clínica, sin embargo la importancia de programas de control de salud permanece. Cuando más se conocen los efectos de los microorganismos sobre la fisiología del huésped, podría ser necesario una nueva revisión de la composición de las pruebas de vigilancia de la salud comercialmente disponibles. Más que ofrecer un menú basado en la patogenicidad, las pruebas diagnósticas podrían diseñarse con otros objetivos más relevantes. Por ejemplo el programa de salud podría estar dirigido a acreditar el estado de salud que necesitan los animales para ingresar en una nueva instalación, enfocado hacia los "efectos de la investigación" sobre los animales actuales dentro de una instalación convencional limpia. Los resultados de las pruebas más recientes podrían proporcionar a los profesionales de la medicina del animal del laboratorio información valiosa de las poblaciones microbianas dentro de la colonia.

Dado el gran número de ensayos específicos disponibles, sería difícil establecer pruebas apropiadas y de coste efectivo. Los pasados esfuerzos han tenido éxito al eliminar bastantes virus en roedores, principalmente porque la serología facilitó su eliminación. En el futuro, los métodos estándares de diagnóstico, incluyendo el cultivo de bacterias, histología y serología, seguirán siendo útiles. Además, métodos nuevos como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) pueden utilizarse cada vez más, a fin de identificar nuevos patógenos y/o "comensales" que no puedan dar una respuesta serológica. No se ha estudiado si gérmenes comensales dan respuesta serológica detectable. Además, los amplios siste-

mas de monitorización de la salud del futuro continuarán incluyendo el control ambiental e incorporarían también métodos nuevos de diagnóstico, tal como el uso reciente de la reacción en cadena de la polimerasa para controlar los filtros de entrada de aire (Henderson y otros 1998).

## ANIMAR A CONOCER AL MÁXIMO LOS EFECTOS MICROBIANOS

Como cualquiera que haya tratado de seguir la nueva información puede atestiguar, la ciencia se mueve a un paso rápido. Como profesionales del animal del laboratorio, tenemos la responsabilidad de educar a la comunidad científica en el conocimiento y efectos potenciales de los microorganismos sobre la investigación. Aunque la veracidad del sistema experimental sea responsabilidad del investigador, nosotros podemos contribuir substancialmente.

Para facilitar nuestro aprendizaje los profesionales del animal del laboratorio deberían promover el desarrollo de una base de datos relacionada con los efectos de los microorganismo sobre la fisiología del hospedador. Se debería poner al día la información regularmente y hacerla electrónicamente accesible. Los datos se podrían organizar de manera similar a como los recopila el Centro de Información del Bienestar del Animal ([WWW.NAL.USDA.GOV/AWIC/](http://WWW.NAL.USDA.GOV/AWIC/)), por ejemplo, temas relacionados con el alojamiento, cría y bienestar del animal del laboratorio. Para conseguir este objetivo, los fondos federales deberían continuar apoyando la investigación relacionada con los efectos sobre la fisiología del hospedador, tanto de los microorganismos conocidos como de los recientemente descubiertos. Se debe poner énfasis en delinear los efectos a nivel de mecanismos celulares y subcelulares, tales como las rutas de señalización de la célula y la regulación génica. Finalmente, este fondo federal debería estar disponible para investigar el papel potencial de los humanos como reservorios de infecciones.

Para aumentar el valor de las publicaciones que incluyen animales del laboratorio, se debería alentar a los investigadores a describir el programa de control de la salud utilizado por su institución y demostrar los resultados de su utilización. Esta información se debería incluir en la sección de Materiales y Métodos de los trabajos de investigación.

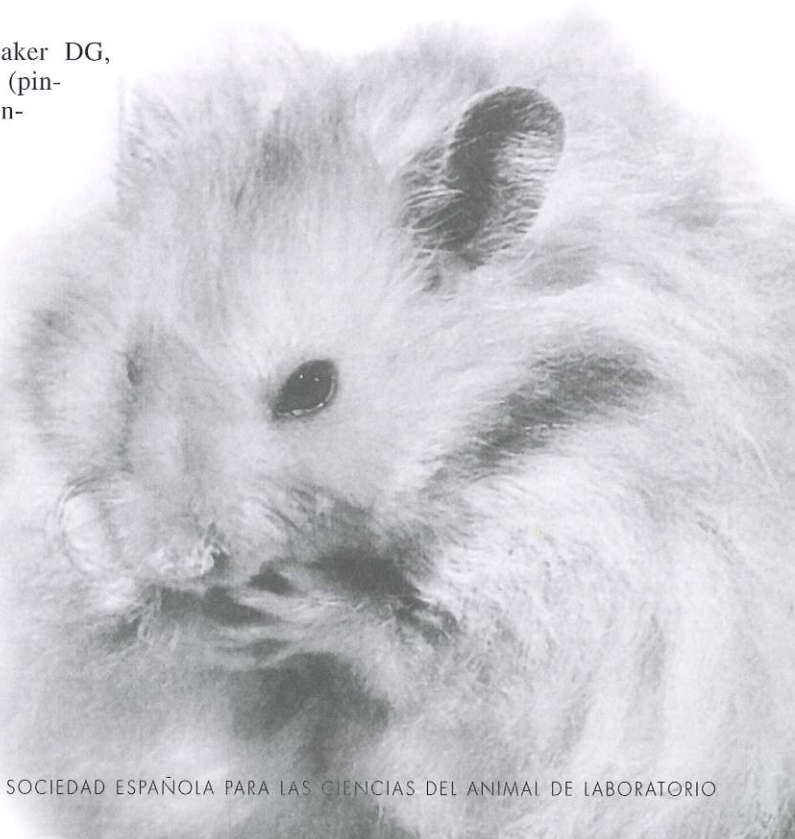
## CONCLUSIÓN

La magnitud a la que se genere información significativa a través de la investigación biomédica dependerá en gran parte de nuestra entendimiento y control de los microorganismos de los roedores de laboratorio. Las investigaciones futuras seguramente revelarán nuevos agentes y efectos adicionales de los microorganismos establecidos en roedores. Para servir al máximo a la comunidad científica, los profesionales del animal del laboratorio deben tomar un papel activo en la comprensión, documentación, y publicación de los efectos de estos agentes. Tales esfuerzos serán intelectualmente recompensados y de gran beneficio a la comunidad investigadora y, por extensión, a la sociedad.

**Agradecimientos:** *Reimpreso con el permiso de ILAR Journal, Institute for Laboratory Animal Research, National Academy of Sciences, 2101 Constitution Avenue NW, Washington DC 20418 (www.national-academies.org/ilar). Queremos agradecer a Susan Vaupel, Editora General de ILAR Journal, las facilidades que nos ha dado para la publicación de este artículo.*

## REFERENCIAS

- Agersborg S, Garza KM, Baker DG, Tung SK. 1998. Syphacia obvelata (pinworm) infection: A potent environmental modifier in the neonatal induction of autoimmune disease and pathogenic Th2 memory response. Keystone (Colorado) Symposium, January 26-February 1, 1998.
- Baker DG. 1998. Natural pathogens of laboratory mice, rats, and rabbits and their effects on research. Clin Micro Rev 11:231-266.
- Carthew P, Sparrow S, Verstraete AP. 1978. Incidence of natural virus infections of laboratory animals. Lab Anim 12:245-246.
- Einarsson O, Geba GP, Zhu Z, Landry M, Elias JA. 1996. Interleukin-11: Stimulation in vivo and in vitro by respiratory viruses and induction of airways hyperresponsiveness. J Clin Invest 97:915-924.
- Heidt PJ, Vossen JM. 1992. Experimental and clinical gnotobiotics: Influence of the microflora on graft-versus-host disease after allogeneic bone marrow transplantation. J Med 23:161-173.
- Henderson KS, White WJ, Cail SP, Perkins CL. 1998. Environmental monitoring for the presence of rodent parvoviruses on barrier room air intake filters via the polymerase chain reaction (PCR). Contemp Top 37:88.
- Lussier G. 1988. Potential detrimental effects of rodent viral infections on long-term experiments. Vet Res Commun 12:199-217.
- NRC [National Research Council]. 1991. Infectious Diseases of Mice and Rats. Washington DC: National Academy Press.
- Weckmann AL, Alcocer-Varela J. 1996. Cytokine inhibitors in autoimmune disease. Semin Arthritis Rheum 26:539-557.
- Weisbroth SH. 1996. Post-indigenous disease: Changing concepts of disease in laboratory rodents. Lab Anim 25:25-33.



# TRANSGÉNESIS POR MICROINYECCIÓN GESTIÓN DE COLONIAS

Jesús Martínez Palacios

## INTRODUCCIÓN

Durante los últimos 25 años hemos asistido al avance espectacular de la Biología Molecular y Celular que se ha traducido en que:

- Somos capaces de identificar, aislar, amplificar y modificar genes responsables de múltiples funciones y caracteres animales.
- Somos capaces de introducir esos genes en células y organismos vivos para poder estudiar sus funciones y efectos.
- Hemos acumulado conocimiento sobre las bases genéticas y moleculares de características, funciones y enfermedades de los seres vivos.

Todos los métodos para manipular genéticamente animales se basan en la capacidad de mantener embriones en cultivo y transferirlos a hembras receptoras. En la primera mitad de este siglo se establecieron procedimientos para obtener y transplantar embriones, pero no fue hasta los años 60 cuando el Dr. Ralph Brinster estableció un sistema simple de cultivo de embriones. Esta tecnología, junto con la del ADN recombinante que permitió aislar y manipular genes, dio la posibilidad de generar animales transgénicos.

Fueron los Dres. Brinster y Palmiter (Nature, 1982) quienes, con la descripción de los “ratones gigantes” obtenidos por la introducción del gen de la hormona del crecimiento, demostraron la posibilidad de alterar de modo permanente y selectivo caracteres animales.

Desde entonces se estima que se han producido varios miles de líneas de animales modificados genéticamente, principalmente ratones. Algunas de estas modificaciones pretenden la generación de modelos animales en los que entender el desarrollo de enfermedades y diseñar o ensayar nuevas terapias. Las modificaciones en especies de interés ganadero han resultado ser más comple-

jas de lo inicialmente estimado, aunque existen diversos ejemplos. La clonación de mamíferos, conseguida mediante transferencia de núcleos de células somáticas en cultivo a ovocitos enucleados supone el último logro importante conseguido en este campo (referido por Wakayama, Nature Genetics, 2-2000) y ha abierto un intenso debate sobre la moralidad de la aplicación de estas técnicas.

## EL CONCEPTO DE TRANSGÉN

Cuando hablamos de transgén debemos tener en cuenta que la introducción de un gen exógeno se vincula a la expresión del mismo en el tejido diana que pretendemos estudiar. Para esto los transgenes constan y se diseñan con dos componentes:

- **Gen estructural**, portador de la información genética necesaria para la síntesis de la proteína en el animal. Actualmente se dispone de varios miles de genes clonados. Con la realización del proyecto Genoma Humano próximamente se dispondrá de los setenta a cien mil genes que forman el genoma de los mamíferos.
- **Elementos reguladores**, son secuencias de ADN responsables de que cada tejido exprese solo una fracción del genoma (lo que le confiere la identidad de tejido y su función). Determinan, por tanto, el o los tipos celulares en que el transgén será funcional. Actualmente se trabaja en el desarrollo de sistemas de elementos reguladores que se puedan activar (o desactivar) de manera controlada mediante la administración de determinados compuestos al animal. De esta manera el grado de control que se tiene sobre la expresión del transgén se aumenta en gran medida.



## TÉCNICAS DE GENERACIÓN DE ANIMALES TRANSGÉNICOS

### Microinyección pronuclear

Es el primer método desarrollado, se inició en el ratón y es el más ampliamente utilizado. Permite la adición del gen exógeno a todas las células del animal y, tras su activación en los tejidos determinados por sus elementos reguladores, el estudio de las consecuencias de esa actividad.

En un experimento tipo (*Figura 1*) las hembras donadoras de embriones son tratadas hormonalmente para inducir su superovulación. Se cruzan con machos fértiles y se sacrifican para recoger los embriones producidos. Los embriones se recogen en estadio de dos pronúcleos, suelen utilizarse 200 a 300 por experimento. El embrión, situado en un microscopio adaptado a tal fin, se sujeta mediante una pipeta de sujeción y, con una finísima aguja de vidrio (diámetro inferior a 1 mm) se le inyecta en uno de sus pronúcleos una solución acuosa que contiene 20 a 200 copias del transgén. Los embriones que sobreviven a la inyección son transferidos a madres adoptivas en las que completarán su desarrollo. Una fracción de los embriones inyectados integra una o varias copias del transgén en un único sitio de su genoma. Mediante técnicas de análisis del ADN (PCR, Southern blot ...) se

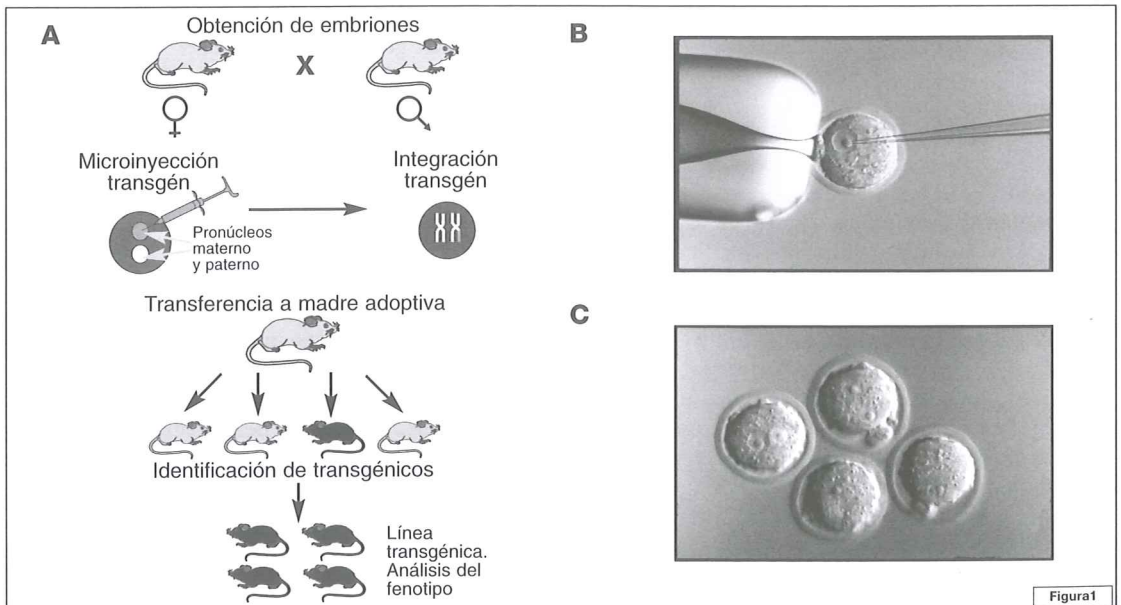
identifican los animales portadores del transgén (fundadores) que serán los que, a través de un sistema adecuado de cruzamiento, generarán las líneas transgénicas buscadas.

Esta técnica tiene varias características que limitan su uso en especies de interés ganadero (caras de mantener estabuladas y de camadas escasas y espaciadas) como son:

- Baja eficiencia. Normalmente menos del 20% de los animales nacidos son transgénicos (y para determinados ADNs, por razones desconocidas, la eficiencia puede llegar a ser menor del 5%). Si descontamos los embriones dañados por la microinyección y los que no llegan a nacer, la eficiencia se reduce a valores aun menores.

- Mosaicismo. Se estima su incidencia en un 30% de los casos. Si el transgén se integra en fases del desarrollo embrionario posteriores al estado de una célula, el transgén aparecerá solamente en una parte de las células del animal. Esto también afecta a las células germinales, por lo que la transmisión del transgén a la descendencia baja del teórico 50% a valores menores o, incluso, puede llegar a no transmitir el transgén.

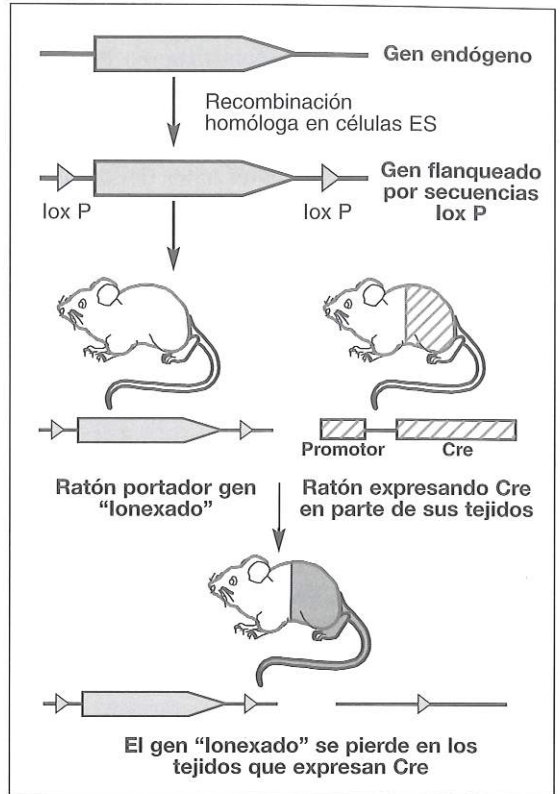
- Efecto de posición. Se produce cuando la expresión del transgén se ve alterada como consecuencia de las secuencias circundantes a la inserción de este.



- Mutagénesis insercional. El fenómeno de integración al azar del transgén en el genoma puede considerarse, con toda propiedad, como un fenómeno mutagénico. Se observan alteraciones fenotípicas achacables a la integración del transgén (no a su expresión) en un 10 a 20% de los transgénicos.

### Mutagénesis condicional. Sistema Cre/lox P

El bacteriófago P1, un virus que infecta a bacterias, posee una enzima (recombinasa Cre) que reconoce específicamente una secuencia (de 34 pares de bases) llamada Iox P. Si esta enzima encuentra dos copias del elemento Iox P, media la recombinación entre ellas. Así si un fragmento de ADN está flanqueado por dos secuencias Iox P con igual orientación, la acción de Cre elimina ese fragmento. La aplicación del sistema 'recombinasa Cre / secuencia de reconocimiento Iox P' ha supuesto un nuevo avance en la capacidad de modificación dirigida del genoma del ratón. La utilidad, o innovación de este sistema, se basa en la capacidad de inactivar la función de un gen tan solo en aquellas células del organismo que expresen la recombinasa Cre (contra lo descrito en el caso de la recombinación homóloga donde esta inactivación afecta a todo el organismo).



Para producir ratones mutantes por este sistema necesitamos dos líneas de ratón:

- por una parte el ratón portador del gen "floreado" ('flanqueado por lox P', generado por mutagénesis dirigida)
- por otra un ratón (normalmente generado por microinyección) que exprese Cre en un tejido diana determinado.

Del cruce de ambos obtendremos un ratón que pierde el gen "floreado" en los tejidos diana de Cre. Todo este proceso se muestra en la *figura 2*.

Los primeros ratones así obtenidos proceden de los laboratorios de los Dres. Westphal y Marth (Estados Unidos) y del Dr. Rajewsky en Europa.

## GESTIÓN DE COLONIAS TRANSGÉNICAS

### Cronograma en el trabajo con transgénicos

Cuando se trabaja con animales transgénicos, han de tenerse claros los tiempos necesarios para desarrollar, establecer y analizar una línea.

Reproducimos un cronograma de la universidad de Michigan como *figura 3*. De modo esquemático hemos de considerar, si todo va bien, un mínimo de 5 meses para empezar los análisis y uso de la línea transgénica.

Además hemos de considerar la "eficiencia" del proceso (solamente alrededor del 15 % de los embriones inyectados portan el transgén) y la posibilidad de que los "fundadores" no transmitan el transgen a la descendencia (ocurre en un 10 % de los casos).

También puede ocurrir que transgenes insertados resulten letales embrionariamente, afecten a la fertilidad de los portadores ...

### Identificación del animal transgénico

Uno de los problemas de los transgénicos es que hemos de determinar el genotipo de cada animal. La identificación de los transgénicos tiene tres aspectos: la individualización de los animales, la extracción de ADN del animal y el análisis del mismo.

## Marcado individual de animales.

Cualquier método de identificación de transgénicos pasa por la individualización inequívoca de los animales que se van a analizar. Esta identificación tiene como peculiaridades la necesidad de realizarse en animales antes del destete y que al mismo tiempo debe obtenerse una biopsia de tejido del animal para obtener su ADN.

**Amputación de falanges.** Aunque el tema es polémico, es el sistema utilizado en la mayoría de los animalarios. El sistema adoptado en nuestro centro permite individualizar hasta 10.000 animales, más aún si se une a sistemas de diferenciación por color de capa, sexo, edad... Para la amputación de falanges han de tenerse en cuenta las siguientes consideraciones:

- No puede realizarse a animales de más de 12 días de edad. Esta edad ha sido fijada en la legislación de los Estados Unidos como límite por corresponder a la falta de desarrollo de terminaciones nerviosas en los dedos, evitándose por tanto la generación de "muñones hipersensibles" en el animal.

- El material a utilizar ha de ser nuevo (o dedicado exclusivamente a este fin) y de buena calidad.
- Puede usarse permanganato potásico para cauterizar las heridas.

Otros sistemas de identificación. Tienen como principal limitación la dificultad de uso en animales de tan corta edad. Sus características más relevantes son:

- Punción de orejas, aunque resulta menos traumático que el recorte de falanges, también es un método agresivo. Puede dar lugar a errores por desgarros o peleas entre los animales.
- Tatuajes, técnicamente limitados. Pueden perderse con el tiempo.

- Crótalos, chapita de metal con una inscripción que se fija a la oreja del animal. Es un método controvertido, pues es recomendado por algunos centros (DKFZ de Heidelberg) y prohibido por otros (MIT de Massachusets).

- Microchips, pueden dar problemas inmunológicos y en estudios de piel (aparecen depósitos de fibras en la superficie del chip).

## Aislamiento de ADN

Hay muchos protocolos de aislamiento de ADN, desde enormemente complejos a kits comerciales en dos o tres pasos. Básicamente el procedimiento consiste en someter la biopsia a digestiones sucesivas de proteínas y ARN, precipitar entonces el ADN de la muestra (con NaCl o solventes orgánicos) y posteriormente lavar con etanol.

## TÉCNICAS DE ANÁLISIS DE ADN

Lo principal es establecer un sistema adecuado de análisis y seguimiento del transgén. La identificación de transgénicos puede basarse en marcado genético (funcional si es un gen que se exprese (p.ej. queratinas en nuestro centro) o no funcional si es un simple gen marcador (secuencia neor), presencia de enzimas transgénicas evidenciables químicamente (beta-galactosidasa p.ej.) o productos transgénicos que pueden llegar a ser visibles a simple vista (EGFP p.ej.).

En cualquier caso, al menos al inicio de la generación de la línea, han de realizarse estudios genéticos (Southern y PCR). Lo ideal es contar con un método de PCR que permita identificar los animales transgénicos antes de que lleguen a edad de destete y un sistema de Southern que permita establecer número de copias, sitios de integración e integridad del transgén para dar por identificada la línea.

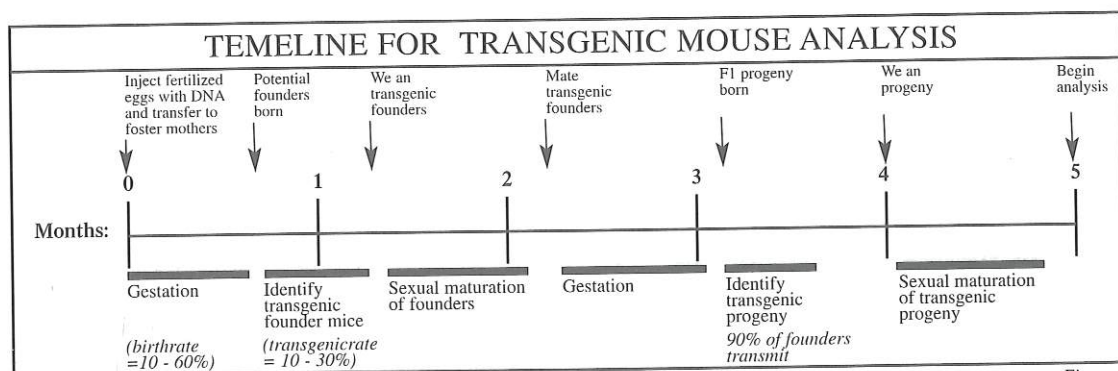


Figura 3

## Southern vs PCR

Resumimos aquí las principales ventajas e inconvenientes de ambas técnicas.

Southern	Vs	PCR
Resultados inequívocos Util en transgénicos y K.O. Indica modo de integración Indica número de copias	Ventajas	Muy rápida Precio ventajoso No usa radiactividad Muchos análisis por lote Necesita poquísimos ADN
Lenta Costosa Requiere radiactividad Usa mucho ADN	Inconvenientes	Difícil de poner a punto Precio de los equipos Problemas de contaminación

Además, no hemos de olvidar aunque no sea una de nuestras responsabilidades, que ha de establecerse (si el transgén se expresa) un sistema de valoración de la expresión del transgén.

### Southern

Las llamadas enzimas de restricción fraccionan el ADN cortándolo en puntos concretos (secuencias de pares de bases características de cada enzima) obteniéndose por tanto fragmentos de distinto tamaño del ADN digerido. Si sometemos estos fragmentos a una electroforesis a través de un gel, migrarán en función de su tamaño y la tensión eléctrica a que sometamos al gel, obteniéndose un patrón de migración característico del ADN-Enzima utilizados. A la evidenciación de estas líneas o “bandas”, que visualmente son similares a un código de barras, se le denomina “huella digital genética” y es característica de cada individuo.

En el caso de los animales transgénicos utilizamos una enzima que corte específicamente dentro del transgén introducido (habrá entonces una banda de ADN “transgénico”) y usando un ADN marcado radiactivamente que reconozca el transgén (sonda) podremos evidenciar su presencia. Las sondas suelen ser fragmentos del transgén que incorporan moléculas radiactivas.

En esta técnica es importante asegurar que la enzima utilizada corta el transgén y que la sonda es específica del ADN transgénico.

Mediante este análisis obtenemos información sobre:

- presencia del transgén
- número de integraciones y disposición de las mismas
- homocigosis o heterocigosis del transgén
- integraciones en más de un punto.

### PCR

La reacción en cadena de la polimerasa se fundamenta en la existencia de ADN polimerasas termoestables. Esta técnica amplifica un fragmento concreto de ADN en ciclos exponenciales basándose en:

- Cebadores o “primers”. Son elementos que determinan la secuencia del ADN que se va a reproducir. Estos cebadores han de ser específicos y exclusivos del fragmento de ADN que buscamos (en nuestro caso el transgén, en otros ADN de virus p.ej.)

- El ADN al someterse al calor (90°C) se desnaturaliza (se separa la doble hélice) permitiendo la fijación de los cebadores y por tanto la duplicación de ese fragmento de cadena durante la posterior incubación.

- En ciclos sucesivos (calor – incubación) se duplica el ADN original y también las copias previamente obtenidas. De este modo en 20-30 ciclos, partiendo de cantidades mínimas de ADN (incluso una sola copia), obtenemos cantidades evidenciables del mismo.

La gran ventaja, e inconveniente, de esta técnica es su especificidad y facilidad de ‘lectura’ de resultados. Los inconvenientes, la posibilidad de contaminaciones y la dificultad de su “puesta a punto”.

### CONTROL GENÉTICO

La generación de transgénicos por microinyección se realiza mayoritariamente sobre embriones de fondo genético híbrido (B6D2F1 usualmente) o sobre la cepa consanguínea FVB/N (esta cepa está aumentando mucho actualmente).

El posterior mantenimiento de estas líneas ha de procurar mantener el fondo genético original.

En el caso de K.O., la cepa de elección suele ser el C57BL/6 (debido a su amplia utilización, buenos índices productivos y por ser una de las de elección en la generación de estos animales). La cepa 129/Sv (que es la fuente común de células ES) se utiliza menos y no suele recomendarse. El retrocruzar 6 generaciones nuestros fundadores con la línea pura asegura un fondo genético superior al 99% de la cepa pura.

Los animales microinyectados sobre fondos híbridos suelen mantenerse por cruce con el híbrido original. Este sistema de cruzamiento puede acarrear derivas genéticas difícilmente controlables, aunque mantiene a toda la "población" o línea en el mismo rango de variabilidad. En cualquier caso la práctica que debe abandonarse es la del cruce de los animales transgénicos con los hermanos de camada no transgénicos (esto, especialmente cuando se facturan los animales suministrados, es más común de lo que parece). Esta práctica, además de incrementar la deriva, puede originar sublíneas que progresivamente van diferenciándose entre sí y del original.

En ambos casos el criopreservar material genético de ratones lo más próximos posibles a los fundadores (o de estos mismos), es una excelente práctica que nos permitirá anular posibles derivas genéticas tanto asociadas al cruzamiento de los animales como a la aparición de mutaciones en nuestras líneas.

### Homocigosis / heterocigosis

Existe una polémica fija en torno a en cuantos procedimientos que implican animales transgénicos me he visto implicado. Evidentemente la decisión depende del uso experimental al que se destinen los animales. No es lo mismo la búsqueda de un gen marcador (genética, enzimática o visualmente), la sobreexpresión de un gen o la anulación de función de otro. Cada caso requiere un genotipo, e incluso hay casos en que los tres genotipos  $+/+$ ,  $+/-$  y  $-/-$  son utilizados en un mismo proceso experimental.

En general parece más recomendable mantener las líneas en heterocigosis. En el caso de los transgénicos por microinyección hay un 10% de casos en que la integración del transgén o el efecto de posición provocan la aparición de fenotipos no asociados al transgén al establecerse la línea en homocigosis.

De cualquier modo, aunque mantener las líneas en homocigosis, resulta más costoso inicialmente, es necesario mayor número de cruces y análisis (además, hemos de retrocruzar cada tres generaciones con el fondo genético original) y hemos de considerar la posibilidad de derivar tantas sublíneas como lugares de integración aparezcan. Por otro lado, una vez establecidas las líneas homocigotas pueden ocurrir reordenamientos de las copias que afecten a la expresión del transgén, cosa mucho menos común en heterocigosis.

También es cierto que en las líneas heterocigotas han de analizarse todas las camadas para seguir el transgén, lo que obviamente no ocurre en líneas homocigotas.

En el caso de los K.O. es usual obtener y mantener las líneas en homocigosis. No hemos de olvidar el retrocruzar nuestros animales para evitar problemas de deriva genética.

### RECOMENDACIONES PARA LA CRÍA

Los animales deben cruzarse cuando alcanzan la madurez sexual (6 a 8 semanas de edad). Adelantar la edad de cruzamiento puede alargar la vida útil reproductora en el caso de machos, pero no es recomendable en las hembras. En cualquier caso machos transgénicos de más de 2 años de edad suelen resultar fértiles si se cruzan con hembras jóvenes.

Usualmente debemos tener crías aproximadamente al mes de haber hecho el cruce (las hembras tienen ciclos estrales de 3-4 días y la gestación dura de 19 a 21 días). Si pasado el mes no tenemos crías o la hembra está visiblemente preñada (es evidente a partir del día 13 de gestación) se deben reemplazar los animales puestos a criar. Inicialmente las hembras en cría deben reemplazarse al sexto parto o a los 6 meses (pasado esto decae mucho su rendimiento). La mejor forma de criar, según nuestra experiencia, es el apareamiento continuo de 1 macho con 2 hembras (permite aprovechar el estro post-parto y acorta enormemente el intervalo entre partos), si es necesaria una producción masiva pueden ponerse 2 hembras con el macho cada 9-10 días, manteniendo dos hembras gestantes por jaula al retirarlas.

# Lechos de chopo para animales de investigación



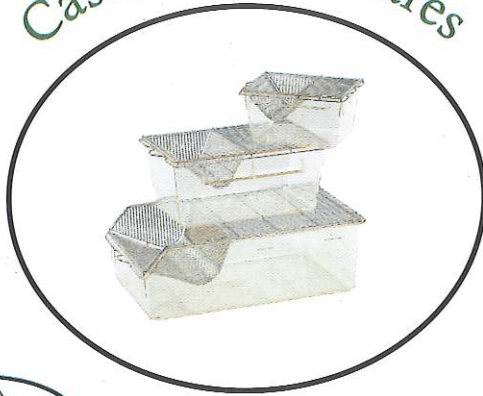
## SOURALIT, S.L.

Pol. Ind. Los Espinos, s/n - 26321 BOBADILLA (La Rioja) España  
Tel.:(34) 941 37 50 20 - Fax:(34) 941 37 50 05 - Tel. móvil: 609 77 60 66  
e-mail: [souralit@ctv.es](mailto:souralit@ctv.es)

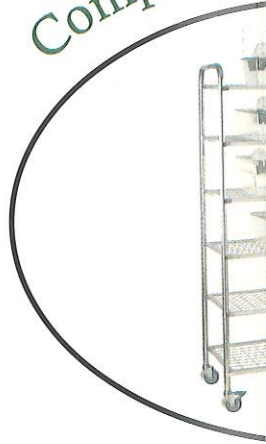


# ¿Buscas piso? .....

Casas Unifamiliares



Complejo



Viviendas de Protección Oficial

e Apartamentos



Panlab, s.l. desde hace ya más de 30 años, aporta al mundo de la Investigación una completa gama de dietas, lechos, equipamiento de estabulario e instrumentos de fabricación propia y de las marcas más reconocidas en el sector.

**Polígono Industrial FAMADES**  
C/ Energía, 112  
08940 - CORNELLA  
Barcelona (SPAIN)

**Teléfono:** + 34 93 419 07 09  
**Fax:** + 34 93 419 71 45  
**E-mail:** [info@panlab-sl.com](mailto:info@panlab-sl.com)  
**Web site:** [www.panlab-sl.com](http://www.panlab-sl.com)

# Laboratory

# Animals

## Revista Internacional sobre la Ciencia y el Bienestar del Animal de Laboratorio

Estos importantes artículos, inicialmente publicados en Inglés en la revista Laboratory Animals, ahora están disponibles en Español.

***Extracción de Sangre en los Mamíferos y Aves de Laboratorio.***

***Recomendaciones de FELASA sobre los Estudios y la Formación de las Personas que Trabajan con Animales de Laboratorio: CATEGORÍAS A y C.***

***Recomendaciones de FELASA (Federación de Asociaciones Europeas de las Ciencias del Animal de Laboratorio) para los Controles de Sanidad en Unidades Experimentales de Ratones, Ratas, Hámsters, Gerbos, Cobayas y Conejos.***

Para mayor información y solicitar gratuitamente las copias, ponerse en contacto a través de:

<http://www.hulp.es/secal/secal.html>

Email: [cea@uah.alcala.es](mailto:cea@uah.alcala.es)

Secretaría de la S.E.C.A.L.:

Facultad de Medicina de la UAM (SECAL), C/ Arzobispo Morcillo 4, 28029 Madrid.

Email: [cfcriado@uam.es](mailto:cfcriado@uam.es) Tel.: +34 91 397 54 76 Fax: +34 91 397 53 53

Editado por:



Publicación patrocinada por:



<http://www.hulp.es/secal/secal.html>

Fax: +34 91 397 53 53

<http://www.mandm.ncl.ac.uk/labani.html>

Fax: +44 1279 62 2573

Se ha de establecer una sistemática relativa al cruce, registro de nacimientos, marcado individual de animales, toma de biopsias, identificación de transgénicos y destete de los mismos. Muchos de los problemas de cría que hemos observado en nuestro animalario se asocian a la falta de método en todas estas cuestiones. Cada cual puede organizarse como quiera, pero es fundamental tener establecido un sistema para realizar todas estas operaciones.

Los animales no transgénicos deberían descartarse salvo que, si así lo contempla el diseño experimental establecido, puedan servir como controles de los hermanos de camada transgénicos (si responden a un genotipo común B6D2F1, FVB/N, C57BL/6 ... es mejor usar animales control fuera de la línea transgénica).

### Registro de datos

Es fundamental mantener un registro completo y sistemático de los datos de nuestra línea transgénica. Actualmente hay disponibles distintos programas informáticos específicamente diseñados para la gestión de colonias (PROCOLA, MICE, LAAMS ...), excede a mis capacidades recomendar uno u otro.

En cualquier caso, los datos mínimos que debemos registrar de cada cría de línea transgénica son:

#### Identificación del animal:

- Pedigrí del animal (fondo genético, parentales)
- Marca individual
- Referencia a su modo de identificación (ADN aislado, PCR/Southern ...)
- Color de capa
- Fecha de nacimiento

#### Producción:

- Fecha de cruzamientos
- Animales nacidos y destetados por camada
- nº de transgénicos nacidos

#### Destino:

- Fecha de sacrificio
- Razón del sacrificio (eutanasia, análisis, uso experimental ...)

### Modo de transmisión del transgén

Cuando establecemos una línea transgénica desde un animal fundador, podemos tener distintos casos. Lo usual es que el animal transmita el transgén a la descendencia en un 50% (conforme a las leyes de Mendel).

Entorno al 10% de los casos, por inserción del transgén en fases de desarrollo embrionario posteriores a una célula, no todas las células del animal tienen integrado el transgén. Este suceso denominado quimerismo o mosaicismo puede afectar también a las células de la línea sexual por lo que la transmisión en estos casos se ve afectada. Si la transmisión del transgén es inferior al 30% podemos sospechar de uno de estos casos (siempre que no se trate de efectos letales embrionarios asociados al transgén).

Algunas veces la integración del transgén ocurre en varios sitios del genoma. La segregación de cada sitio de integración es independiente y puede traducirse en transmisiones superiores al 80%. Debemos analizar y segregar estos casos conforme a los sitios de integración, pues pueden afectar la expresión del transgén.

En el caso de los K.O., por ser las células ES portadoras de la mutación siempre XY, solamente debemos criar desde fundadores machos. Es este caso los fundadores son siempre quimeras y sus posibilidades de transmisión pueden variar del 0.5 al 100%. La identificación, basada en el color del pelo (quimeras sobre embriones de capa coloreada) facilita el cruzamiento de estos animales.

### CONCLUSIONES

Desde la experiencia de nuestro Centro en la generación de líneas transgénicas por microinyección y la cría de éstas y los K.O. que hemos ido acumulando, podemos dar las siguientes recomendaciones:

- El 90% de las líneas transgénicas son asimilables a cualquier otra línea de ratón.
- Es fundamental establecer rutinas sistemáticas para el trabajo con estos animales (marcado, modo de identificación, uso ...).
- El registro de datos ha de ser sistemático y exhaustivo.
- Hemos de tener claramente establecidas las tareas y responsabilidades de todos los implicados en la cría y uso de estos animales.

# 3 NOTICIAS *de interés*

## VALIDACIÓN DE DOS MÉTODOS ALTERNATIVOS: CORROSIÓN CUTÁNEA Y FOTOTOXICIDAD

Joana Visa

Directiva 2000/33/CE de la Comisión de 25 de abril de 2000 por la que se adapta al progreso técnico la Directiva 67/548/CEE del Consejo relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas en materia de clasificación, embalaje y etiquetado de las sustancias peligrosas.

La comisión de las Comunidades Europeas propone introducir métodos de ensayo alternativos que no impliquen la utilización de un animal en el anexo V de la Directiva 67/548/CEE de forma que estén disponibles para ensayar con sustancias químicas tal y como se definen en el apartado 1 del artículo 3 de la directiva 67/548/CEE.

En la presente directiva se han adoptado dos nuevos métodos alternativos:

### ANEXO 1: B40 Corrosión Cutánea:

El Centro Europeo de Validación de Método Alternativos (CEVMA) ha considerado científicamente válidos dos ensayos *in vitro* de corrosión cutánea: el ensayo de resistencia eléctrica transcutánea en piel de rata (the rat skin transcutaneous electrical resistance (TER)) y un ensayo que emplea un modelo de piel humana. El estudio de validación demuestra que ambos ensayos podían discriminar de manera fiable entre agentes corrosivos y no corrosivos cutáneos conocidos. Además, el protocolo del ensayo basado en un modelo de piel humana permitió una distinción correcta entre grados de efectos corrosivos de sustancias ya testadas. En el anexo 1 se detallan las descripciones y los procedimientos de ambos ensayos.

### Resumen del procedimiento:

- Ensayo de resistencia eléctrica transcutánea en piel de rata: la sustancia de ensayo se aplica durante 24 horas a las superficies epidérmicas de discos cutáneos tomados de piel de ratas jóvenes sacrificadas sin causar sufrimientos. Las sustancias corrosivas se caracterizan por su capacidad de producir pérdida de la integridad normal de la capa córnea y de la función de barrera.

- Modelo de piel humana: el material de ensayo se aplica tópicamente durante 4 horas a un modelo tridimensional de piel humana que comprende una epidermis reconstruida con una capa córnea funcional. Los materiales corrosivos se caracterizan por su capacidad de producir una disminución de la viabilidad celular.

### ANEXO 2: B41: Ensayo de fototoxicidad *in vitro* 3T3 NRU.

La información que proporciona el ensayo sirve para determinar el potencial fototóxico de una sustancia de ensayo, es decir, para saber si puede entrañar peligros o no en caso de exposición a las radiaciones UV y de luz visible. Se propone con la finalidad de establecer un método *in vitro* válido para sustituir a los diversos ensayos *in vivo* empleados. El anexo 2 recoge un enfoque secuencial de ensayo de la fototoxicidad de sustancias químicas.

### Resumen del procedimiento:

El ensayo de fototoxicidad en células Balb/c 3T3 se basa en la comparación de la citotoxicidad de una sustancia cuando se somete a ensayo exponiéndola a una dosis no citotóxica de radiación UVA/luz visible y sin exponerla.

# NOTICIAS/DIRECCIONES DE CARACTER INTERNACIONAL

Helena ASENSI ARTIGA  
CERB  
Chemin e Montifault  
18800 Baugy  
Francia

## CONGRESOS Y REUNIONES

■ La **Humane Society of the United States (HSUS)** presenta el **premio Russell and Burch** (\$5,000 ) para científicos que hayan contribuido al avance de los métodos alternativos en el área de la investigación biomédica. William M. Russell y Rex L. Burch, fueron los científicos que formularon la “trilogía” de las 3R. Este premio es un reconocimiento al papel que los investigadores pueden jugar en la protección del animal de laboratorio. Los aspirantes deben presentar un curriculum que incluya trabajos sobre el trato humanitario a los animales. Los requisitos para optar son: presentar una carta explicativa de la idoneidad del candidato, el curriculum vitae, y artículos publicados. La fecha límite es el 15 de mayo. Podéis pedirlo también para otras personas. La beca sale cada 3 años, coincidiendo con la celebración del Congreso Mundial, **Alternatives and Animal Use in the Life Sciences** también trianual. El próximo tendrá lugar en agosto 2002 en New Orleans, Louisiana. Podéis encontrar mas información en:

<http://www.worldcongress.net>

O dirigiros a:

Russell & Burch Award  
Animal Research Issues Section,  
The HSUS, 2100 L street  
NW, Washington, DC  
20037, USA  
tel.: 301-258-3041  
fax: 301-258-7760  
e-mail: [ari@hsus.org](mailto:ari@hsus.org)

■ El **27th Congreso Mundial Veterinario** se celebrara en Túnez del 25 al 29 de Septiembre, 2002. Se ha abierto el plazo para el envío de abstracts, que serán considerados como preincip-

ción, con la posibilidad de reducción de las tasas. Toda la información necesaria, y un “complemento turístico” se halla en la página web

<http://www.worldvetunisia2002.com>

También podéis dirigiros al Comité Organizador:  
Telefono: ++ (216-71) 565009  
Fax: ++ (216-71) 566881  
Email: [conord.vet@planet.tn](mailto:conord.vet@planet.tn)  
P.O.Box: 267  
Tunis-Mahrajène  
1082 Tunisia

■ El workshop “**DISRUPTORES ENDOCRINOS**” tendrá lugar los días 25 y 26 de febrero del 2002 en Vancouver, Canada. El objetivo de la reunion es la identificación de las oportunidades reales para la reducción, refinamiento y reemplazamiento en los animales empleados en los trabajos, así como de la actividad de los disruptores exocrinos.

Programa:

En primer lugar se revisarán los programas administrados por US EPA y OECD. Seguirá una sesión de posters sobre los mecanismos de disrupción endocrina y desarrollo de nuevos modelos. El programa será completado con grupo de discusión sobre cuestiones específicas, como los “endpoints”, nuevas tecnologías, y los interrogantes que se plantean en estos momentos

La direcciones de contacto son:

[mprincip@jhsph.edu](mailto:mprincip@jhsph.edu)  
<mailto:maat@jhsph.edu>  
<http://caat.jhsph.edu>

■ Los días 16 y 17 de octubre se celebrará un Simposio de 2 días organizado por FRAME para

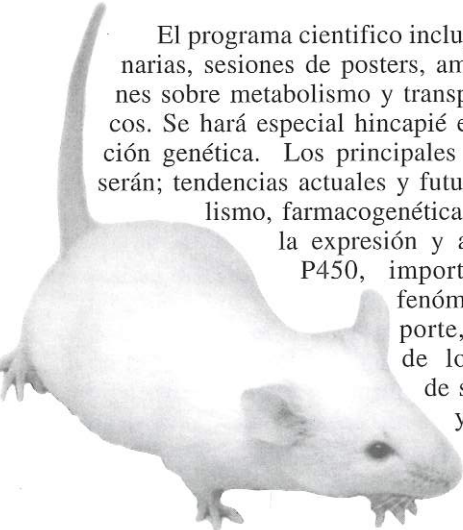
unir expertos e interesados en métodos de reducción. Para mas información dirigiros a:

Miss Sylvia Vaughan,  
 Russell and Burch House  
 96-98 North Sherwood Street  
 Nottingham, NG1 4EE, UK.  
 Tel: ++ 0115 958 4740,  
 Fax: ++ 0115 950 3570,  
 E-mail: [sylvia@frame.org.uk](mailto:sylvia@frame.org.uk)

■ En el "Journal of the American Veterinary Medical Association", numero del 15 de diciembre de 2001. AVMA (ANIMAL WELFARE FORUM). El Dr. Alex livingston presenta una panoramica sobre el manejo del dolor en los animales y las posiciones éticas frente al mismo. En el trabajo se analizan las dificultades con que nos encontramos para tratar el dolor en los animales. Algunas de ellas son, las diferencias en cuanto a la educacion y formacion de la persona que lo evalua, la relatividad en cuanto a la interpretación de los sintomas que observamos en los animales, la posible "discriminación" de animales, como los predadores o vectores de enfermedades. Todo ello unido al hecho de que a los animales no se les permite decidir si quieren o no colaborar en nuestras investigaciones, y que en los trabajos sobre el control del dolor, parece obligatorio el llegar hasta un cierto grado de sufrimiento para poder evaluar los beneficios del medicamento que estamos probando.

■ El "18TH EUROPEAN WORKSHOP ON DRUG METABOLISM" tendra lugar del 16 al 20 de septiembre de 2002 en Valencia.

El programa científico incluye lecturas plenarios, sesiones de posters, amplias discusiones sobre metabolismo y transporte de farmacos. Se hará especial hincapié en la investigación genética. Los principales temas tratados serán; tendencias actuales y futuras en metabolismo, farmacogenética, regulación de la expresión y actividad de la P450, importancia de los fenómenos de transporte, metabolismo de los compuestos de sulfuro-selenio, y metabolismo en salud y en enfermedad.



La secretaría del congreso corre a cargo de:  
 Viajes El Corte Ingles, S.A.  
 División Congresos, Convenciones e Incentivos  
 Pintor Sorolla 25,  
 46002 Valencia (Spain)  
 Tel.: +34-963522727  
 Fax: +34-963522743  
 Email: [dccivlc.1@viajeseci.es](mailto:dccivlc.1@viajeseci.es)  
 La secretaría científica  
 Dra. M. Pilar López-García  
 Dept Bioquímica y Biología Molecular  
 Facultad de Farmacia  
 Universidad de Valencia  
 46100-Burjassot  
 Email: [dmw2002@uv.es](mailto:dmw2002@uv.es)

WEBSITE  
[www.esbp.org/DMW2002.htm](http://www.esbp.org/DMW2002.htm)

■ Las Sociedades Europea e Internacional de Dermatología y Dermatopatología celebrarán de manera conjunta en Niza sus reuniones. La fecha límite para enviar abstracts es el 1 de Abril. Podéis pedir información para la inscripción en:

<http://isvd.myfsb.com>.

O escribir a  
[jmansell@cvm.tamu.edu](mailto:jmansell@cvm.tamu.edu) (Joanne Mansell)

■ La proxima reunión de SCAND-LAS tendrá lugar del 18 al 21 de abril en Oslo. Las sesiones se desarrollarán de forma paralela en Noruego e Inglés y estan dirigidas tanto a investigadores como a personal técnico. Para obtener el programa y la hoja de inscripción, podéis buscar en:

<http://oslovet.veths.no/scandlas/2002/program.html>  
<http://oslovet.veths.no/scandlas/2002>

o dirigiros a :  
 Adrian Smith  
 Laboratory Animal Unit  
 Norwegian School of Veterinary Science  
 P.O. Box 8146 Dep  
 N-0033 Oslo  
 Norway  
 Tel. +47 22 96 45 74  
 Fax +47 22 96 45 35  
 email: [adrian.smith@veths.no](mailto:adrian.smith@veths.no)

■ El Instituto de Patología Animal de la Universidad de BERNA organiza un curso formación continuada preparatorio para el examen del ECVP o el ACVP.

La dirección de contacto es:  
INSTITUT FÜR TIERPATHOLOGIE,  
UNIVERSITÄT BERN  
Länggassstr. 122, CH-3012 Bern  
Course in General Pathology  
Julio 18 – 20, 2002

También hay información disponible en:  
<http://www.vetmed.unibe.ch/itpa>

■ **The European Course on Pathology & Embryology of Genetically Engineered Mice.** Este curso se celebrará en la Facultad de Veterinaria de Nantes del 22 al 26 de abril de 2002. El idioma es el inglés. Este curso esta especialmente aconsejado para aquellos de vosotros interesados en fenotipos o con de animales genéticamente modificados y para patólogos veterinarios que se presenten al examen del E.C.V.P. Habrá sesiones prácticas con el fin de desencadenar discusiones. Los temas tratados incluirán: Métodos de obtención de animales transgénicos y pruebas de genotipo, patología, embriología, animales transgénicos obtenidos para el estudio de enfermedades neurodegenerativas y el cancer. La preinscripción esta abierta hasta el 15 de marzo. El número máximo de participantes es de 30.

Si os interesa, contactad con:

Pr. Monique WYERS  
Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes  
Anatomie Pathologique  
Atlantpôle  
La Chantrerie,  
BP 40706  
F-44307 Nantes Cedex 03  
Tel: +33 (0) 2 40 68 76 53  
Fax: +33 (0) 2 40 18 00 02  
[eurogems@vet-nantes.fr](mailto:eurogems@vet-nantes.fr)

■ **La Fundación Luso-Americana para o Desenvolvimento (FLAD) y International Bioethics Institute (FNIBI)** nace de la cooperación entre la Unión Europea y los Estados Unidos, con el objetivo de guiar a sus estudiantes en estudios bioéticos. La reunión tendrá lugar en Lisboa y tendrá una duración de una semana, del 27 de junio al 4 de julio del 2002. Las sesiones en las que participaran expertos europeos y americanos, estarán dedicadas a teoría de la ética, pedagogía y policía, casos sobre biología, marina, agricultura, biotecnología o medio ambiente.

La fecha límite es el 15 de abril. Para mas información:

<http://www.biotech.iastate.edu/Bioethics/Institute/flad.html>  
<http://www.flad.pt/pt/bioethic.html>

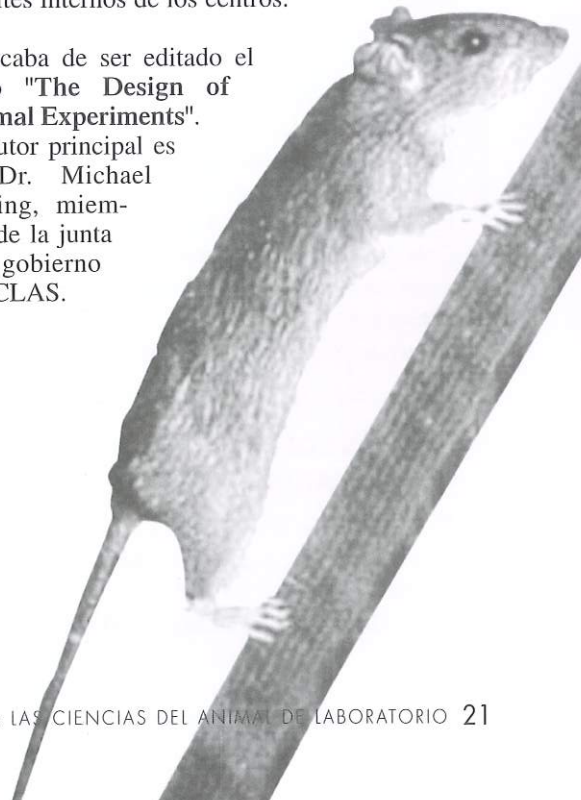
Persona de contacto:  
Humberto Rosa  
e-mail: [humberto.rosa@mail.telepac.pt](mailto:humberto.rosa@mail.telepac.pt)  
telefono/fax: +351. 21 4521061

## NOVEDADES

■ Ha salido el **Boletín N° 23 del Grupo de Trabajo Español de Métodos Alternativos**, está en su página web: [tox.umh.es/aet/gtema/](http://tox.umh.es/aet/gtema/)

El senado de los EEUU ha aprobado medidas para excluir a los roedores y pájaros de las leyes de protección del Aniaml Welfare Act. Evidentemente esta actitud cuenta con la oposición de los grupos de defensa de los derechos de los animales. La razón dada por los defensores de esta exclusión es el intento de disminuir los gastos de la investigación biomédica, y el tiempo dedicado a inspecciones y "papeleo" (necesarias cuando estos animales se hallan protegidos). Parece que la vigilancia en cuanto al respeto del bienestar y uso de los animales recaera en los comités internos de los centros.

■ Acaba de ser editado el libro **"The Design of Animal Experiments"**. El autor principal es el Dr. Michael Festing, miembro de la junta de gobierno de ICLAS.



4

# LIBROS Y CONVOCATORIAS

## LIBROS • publicaciones

Sección editada por Luis Muñoz

### ■ MANUAL DE TRATAMIENTO Y RECONSTRUCCIÓN DE HERIDAS EN PEQUEÑOS ANIMALES

*Fowler, David - Williams, John M.*

2001, 217 Págs., ISBN: 84-87736-43-2, Cartoné  
58,59 Euros (IVA incluido), 9.749 Ptas.

**INDICE:** Tratamiento y reconstrucción de heridas. Etiología y clasificación de las heridas y de los déficit cutáneos. Cicatrización de las heridas y factores influyentes. Cierre de heridas: opciones y toma de decisiones. Tratamiento abierto de las heridas. Drenajes quirúrgicos. Técnicas para la liberación de tensión y colgajos cutáneos locales. Colgajos de patrón axial. Injertos cutáneos. Colgajos pediculares de músculo. Microcirugía reconstructiva. Consideraciones especiales en el tratamiento de heridas. Complicaciones de la cicatrización de heridas. Casos clínicos

### ■ ATLAS COLOR DE HISTOLOGÍA VETERINARIA

*Bacha, William J. - Bacha, Linda M*

2001, 308 Págs., ISBN: 950-555-244-0,  
2ª Edic., Cartoné  
63,11 Euros (IVA incluido), 10.501 Ptas.

**INDICE:** Principios generales de histología. Epitelio. Tejido conectivo propiamente dicho y embrionario. Cartílago. Hueso. Sangre. Médula ósea. Músculo. Sistema nervioso. Aparato cardiovascular. Sistema linfático. Tegumento. Aparato digestivo. Aparato urinario. Aparato respiratorio. Sistema endocrino. Aparato reproductor del macho. Aparato reproductor de la hembra. Ojo. Oído. Glosario. Bibliografía. Índice.

### ■ EPIDEMIOLOGÍA VETERINARIA

*Contreras de Vera, Antonio, Sánchez López,*

*Antonio Corrales Romero, Juan Carlos*

2001, 365 Págs., ISBN: 84-8425-186-1, Rústica  
18,00 Euros (IVA incluido), 2.995 Ptas.

**INDICE:** Introducción a la epidemiología. Causalidad de enfermedad. Indicadores de salud. Geografía sanitaria. Transmisión y mantenimiento de la infección. Fuentes de datos de epidemiología veterinaria. Demostración de asociación estadística. Muestreo: población muerta. Variables más habituales en epidemiología veterinaria. Epidemiología diagnóstica. Epidemiología teórica. Infraestructura epidemiológica.

■ **ANIMAL TESTING IN INFECTIOLOGY**

*Schmidt, A.; Weber, O.F.*

2001, 124 Págs., ISBN: 3-8055-7260-3, Cartoné 148,51 Euros (IVA incluido), 24.710 Ptas.

El conocimiento resultante de la pruebas con animales ha contribuido significativamente a la mejora de la salud humana y animal. Las regulaciones que conciernen a estas pruebas, han comenzado a ser más restrictivas en las últimas décadas, asegurando que solo se realizan ensayos significativos con un mínimo sufrimiento animal. Aparte de estudios fundamentales in vitro, y ensayos clínicos, las pruebas en animales son indispensables para la investigación en enfermedades infecciosas. Este libro nos da una visión general de las pruebas animales en los cuatro campos fundamentales de la patología infecciosa. Bacteriología, virología, micología y parasitología, así como en el desarrollo de vacunas. Se introducen nuevas técnicas y se discute su eficacia de forma crítica. Además, el texto muestra maneras de refinar, reducir, y reemplazar las pruebas en animales de investigación sobre infecciones experimentales, y considera los aspectos éticos sobre su uso. Esta publicación será de interés para investigadores, agencias reguladoras, veterinarios que supervisan a los animales de experimentación, criadores, y cualquiera que esté involucrado en el debate público sobre las pruebas con animales.

■ **MANUAL DE MEDICINA Y CIRUGÍA DEL CONEJO**

*Flecknell, Paul*

2001, 200 Págs., ISBN: 84-87736-46-7, Cartoné 58,59 Euros (IVA incluido), 9.749 Ptas.

**INDICE:** Prólogo. Prefacio. Manejo, sujeción y técnicas clínicas. Biología general y mantenimiento. Bioquímica clínica y hematología. Alteraciones del aparato digestivo. Alteraciones del aparato respiratorio. Aparato urogenital. Alteraciones del sistema nervioso. Alteraciones

oftalmológicas. Alteraciones dermatológicas. Alteraciones del comportamiento. terapèutica. Anestesia. Técnicas quirùrgicas y alteraciones dentales. Eutanasia. Índice.

■ **PRIMATE DENTITION: AN INTRODUCTION TO THE TEETH OF NON-HUMAN PRIMATES**

*Swindler, Daris R.*

2002, 296 Págs., ISBN: 0-521-65289-8, Cartoné 105,48 Euros (IVA incluido), 17.550 Ptas.

**DESCRIPCIÓN:** La dentición de los primates varía ampliamente entre géneros y especies. Este libro nos brinda información sobre la anatomía dental comparada de los primates. El cuerpo de este texto constituye una descripción morfológica comparativa, con análisis, tablas de referencia, e ilustraciones de la dentición permanente de 85 especies de primates existentes, estableciendo una base para futuras investigaciones. El libro también incluye información sobre microestructura dental y su importancia para comprender las relaciones taxonómicas entre especies, datos sobre la dentición decidua, desarrollo prenatal y procesos ontogénicos, y material que ayuda a estimar la edad y el historial de la vida del animal.

■ **HANDBOOK Nº 14 'THE DESIGN OF ANIMAL EXPERIMENTS: REDUCING THE USE OF ANIMALS IN RESEARCH THROUGH BETTER EXPERIMENTAL DESIGN'**

*Michael F. W. Festing; Philip Overend; Rose Gaines Das; Mario Cortina Borja; Manuel Berdoy*  
 £14.00, ISBN: 1-85315-513-6, paperback, 112pp; 2002

Cuando no existe alternativa en el uso de animales de laboratorio, es importante que los experimentos estén bien diseñados y correctamente analizados para maximizar la consecución de resultados científicamente válidos. Los experimentos

que usan pocos animales pueden fallar a la hora de dilucidar efectos de gran importancia biológica, mientras que aquellos que utilizan demasiados, o de forma incorrecta, pueden someter a éstos a un dolor innecesario, angustia o daño. Este libro ayuda a todos los científicos que usan animales de laboratorio, a diseñar sus experimentos más efectivamente y/o a mejorar su capacidad para contactar con estadísticos profesionales cuando diseñen experimentos más complejos. Se cubren la mayoría de los aspectos del diseño experimental, así como la elección del animal, no cubierto en los textos clásicos de estadística.

**CONTENIDO:** Acknowledgements; Preface; Basic principles of the design of animal experiments; Choice of animals; Understanding and controlling variation; The design of experiments; The determination of sample size; Presenting and interpreting the results and making decisions; Concluding remarks; putting the project together; Appendix 1: Brief notes on statistical packages; Appendix 2: Further reading; References; Index

#### ■ MANAGEMENT OF LABORATORY ANIMAL CARE AND USE PROGRAMS

*M.A. Suckow; F. A. Douglas; R. Weichbrod*  
*CRC Press; 2001, 288 pags,*  
*ISBN : 0-8493-2287-1 ; 69,95\$*

People: A Most Valuable Resource, Kristina Stephens; Education and Training Programs, Bruce Kennedy; Personal Leadership Skills, Fred Douglas and Dennis Miller; Professional Ethics, Jan Wyrick Gnad and Stuart Leland; Animal Health and Medicine, Mark A. Suckow and Brent Martin; Regulatory Compliance, Janet C. Gonder; Quality Management, Robert E. Mueller; Standard Operating Procedures and Policies, Steven Kuhlman; Physical Plant, Gail Heidbrink; Fiscal Management, James A. Alford Grants and Contracts, Howard G. Rush; Utilization of Information Technology, Farol Tomson; Hazard and Risk Management, Christian E.

Newcomer; Disaster Management, Catherine M. Vogelweid; Facility Security, DeWayne Walker; Public Relations, Lynn Anderson, Jacqueline Calnan, and Janet Skidmore

#### ■ MANAGING THE LABORATORY ANIMAL FACILITY

*Jerald Silverman*  
*CRC Press; \$69.95; ISBN: 0849312337;*  
*12001; Number of Pages: 21*

Table of Contents. Preface. Dedication. The Basics of Managing a Laboratory Animal Facility The Organizational Environment. The Management of Human Resources. Managing Financial Resources. Management of Information Resources. Time Management. Appendices. Setting Per Diem Rates. Hiring the Right Person. Training

#### ■ HANDBOOK OF MOUSE AUDITORY RESEARCH

*James F. Willott*  
*CRC Press; 2001 ISBN: 0-8493-2328-2;*  
*149,95 \$; 736 pags.*

Esta compilación única de capítulos revisa un amplio rango de tópicos sobre la investigación auditiva. Aunque dirigida fundamentalmente a investigaciones en el ratón, también nos brinda una información de fondo sobre el papel de éste, en el contexto más amplio de la investigación auditiva en general.

#### ■ SYSTEMATIC EVALUATION OF THE MOUSE EYE: ANATOMY, PATHOLOGY, AND BIOMETHODS

*R.S.Smith, Simon W.M.John, P.M.Nishina, J.P.Sundberg, CRC Press, 2001,*  
*ISBN: 0-8493-0864-X, 124,95 \$*

En los últimos años, nuestra capacidad de examinar el ojo del ratón, y ver las estructuras vasculares y neurales *in vivo*, ha incrementado

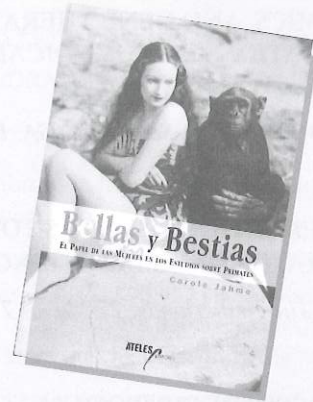
nuestro interés por la patología ocular y el desarrollo del globo ocular. Este libro, nos describe su desarrollo, estructura, y patología, así como su anatomía normal, desarrollo pre y postnatal, patología regional, y metodología para la evaluación del ojo y anejos.

el desarrollo de este campo en temas tan diversos como la evolución humana, el estudio de sistemas sociales, las investigaciones sobre evolución del lenguaje y de la inteligencia, la función del orgasmo femenino, y la conservación de especies de primates en peligro de extinción.

■ **BELLAS Y BESTIAS.  
EL PAPEL DE LA MUJER EN EL  
ESTUDIO SOBRE PRIMATES**

*Carole Jahme*  
2002, 345Págs., ISBN: 84-931067-8-X  
Rústica, 22,00 Euros (IVA incluido)

En este libro Carole Jahme repasa de manera muy completa la contribución de la mujer al mundo de la primatología en los últimos cuarenta años. En su conjunto, ofrece una visión global del papel fundamental de la mujer en



# CONVOCATORIAS

■ **THE 32ND SCAND-LAS ANNUAL  
SYMPOSIUM AND EDUCATIONAL DAYS**

*Gardermoen, Norway*  
8th - 21st April 2002  
Pueden encontrarse mas detalles en la pagina:  
<http://oslovet.veths.no/scandlas/2002>

■ **CRIOPRESERVACIÓN DE GAMETOS  
Y EMBRIONES DE RATÓN**

*Fechas.- 22 a 25 de Abril de 2002;*  
Número de alumnos.- 12

Precio.- 511 Euros  
Profesorado.- Como en cursos anteriores.  
Temario.- Revisión de anatomía ap. reproductor y desarrollo embrionario.  
Manejo de embriones. Introducción a la criobiología. Criopreservación de gametos (espermatozoides y ovario) y embriones (lenta -pajuelas y viales-, rápida y vitrificación)  
Duración.- 30 horas lectivas  
Mas información.- Ana Tiviño, Telf. 913466486 ,

e-mail: [ana.trivino@ciemat.es](mailto:ana.trivino@ciemat.es)

■ **GREAT APES AT THE THRESHOLD: IMPLICATIONS FOR LAW, ETHICS, CONSERVATION AND SCIENCE**

*Boston, USA( email: [Susan.Brogan@tufts.edu](mailto:Susan.Brogan@tufts.edu))  
28 April- 1 May*

■ **ACLAM FORUM : "GENETICS, GENOMICS, AND GENE THERAPY: APPLICATIONS IN BIOMEDICAL RESEARCH".**

*April 14-17, 2002 in Savannah, GA. USA*

■ **INTERNATIONAL COURSE ON LABORATORY ANIMAL SCIENCE**

*Utrecht, The Netherlands, 27 Mayo- 7 de Junio*

■ **8TH FELASA SYMPOSIUM**

*15- 20 de Junio de 2002, Aachen, Alemania  
[www.felasa.org](http://www.felasa.org)*

■ **XI REUNIÓN CIENTÍFICA DE LA SEMA**

*Sociedad Española de Mutagénesis Ambiental  
Bilbao, 10, 11 y 12 de Julio de 2002*

■ **FLAD/NSF INTERNATIONAL BIOETHICS INSTITUTE**

*Lisboa, Portugal  
June 27 - July 4, 2002  
<http://www.biotech.iastate.edu/Bioethics/Institute/flad.html>*

■ **EUROPEAN SOCIETY OF TOXICOLOGY IN VITRO (ESTIV) 12TH INTERNATIONAL WORKSHOP ON IN VITRO TOXICOLOGY**

*Golfo di Gaeta - Centro CONI - Formia  
16-19 October 2002. Italy  
[www.xs4all.nl/~shorbach/INVITOX](http://www.xs4all.nl/~shorbach/INVITOX)*

■ **XVII CONGRESO PANAMERICANO DE CIENCIAS VETERINARIAS**

*Del 18 al 22 de noviembre de 2002 se celebrará en La Habana (Cuba), el XVII Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias. Uno de los temas será el animal de laboratorio. Para más información, podéis contactar con este email: [scmvcd@infomed.sld.cu](mailto:scmvcd@infomed.sld.cu)*



## WEB Y OTROS

■ **BIOMEDNET**

Una interesante web de recursos en biociencias. Entre otros, publican una base de datos sobre ratones knockout, donde se pueden hacer búsquedas de fenotipos y mutaciones

<http://www.bmn.com/>

■ **NECROPSIA DE RATA Y RATÓN:**

[http://www.eulep.org/Necropsy\\_of\\_the\\_Mouse/index.php](http://www.eulep.org/Necropsy_of_the_Mouse/index.php)

<http://www.utm.edu/~rirwin/RatAnat.htm>

<http://ccm.ucdavis.edu/tvmouse/>

# 5 VARIOS

## INSTRUCCIONES PARA LA INSCRIPCIÓN COMO SOCIO EN LA SOCIEDAD ESPAÑOLA PARA LAS CIENCIAS DEL ANIMAL DE LABORATORIO SECAL

SE PUEDE SOLICITAR UNB IMPRESO DE INSCRIPCIÓN, A LA SECRETARÍA DE LA SECAL:

- por email: [cfcriado@UAM.ES](mailto:cfcriado@UAM.ES)
- por teléfono: (+34) 91 397 54 76
- por fax: (+34) 91 397 53 53

**Universidad Autónoma de Madrid**  
**Facultad de Medicina, SECAL**  
 C/ Arzobispo Morcillo 4,  
 28029 Madrid, España

- y enviarlo a la dirección de correos:
- ó hacerlo directamente a través de la página web de la sociedad: <http://www.secal.es>

EN LA INSCRIPCIÓN DEBERÁ ENVIAR A LA SECRETARÍA LOS SIGUIENTES DATOS:

- Nombre...
- Dirección de correspondencia...
- Cuenta bancaria para la domiciliación de recibos...
- Teléfono de contacto...
- Fax...
- E-mail...
- Profesión (puesto de trabajo, etc.)...
- Lugar de trabajo...

LA CUOTA ANUAL PARA LOS NUEVOS SOCIOS OFRECE:

1. Ser socio de la SECAL a todos los efectos.
2. La recepción trimestral de la revista de la SECAL "Animales de Laboratorio".

3. Recibir toda la información relacionada con nuestro campo de trabajo.

4. La recepción trimestral de la revista inglesa *Laboratory Animals* con una cuota especial, equivalente a la cuarta parte del precio normal de venta, por ser la revista científica oficial de la SECAL.

5. Descuentos en cursos, congresos y jornadas organizadas por la SECAL.

6. Recepción sin cargo, de las traducciones al español de artículos extranjeros publicados originalmente en la revista *Laboratory Animals*.

7. Pertenecer a la lista de correo electrónico SECAL-L, compuesta por especialistas y personas interesadas en el área de los animales de laboratorio.

EL IMPORTE DE LA CUOTA DE INSCRIPCIÓN ANUAL PARA NUEVOS SOCIOS ES DE:

- 6€ de inscripción el primer año
- 36€ de cuota anual
- 30€ de suscripción anual a *Laboratory Animals*
- 6€ si desea recibir el índice de revistas internacionales relacionadas con el Animal de Experimentación (Opcional)

Usted quedará provisionalmente dado de alta en la Sociedad, aunque no será socio a todos los efectos, hasta que sea aceptado por la Asamblea General. La próxima asamblea se celebrará en San Sebastián en el año 2003. Tiene que presentar la firma o conformidad de 2 socios en activo de la Sociedad para facilitar su aceptación.



# CERTIFICACIÓN Y EUROPEIZACIÓN! CERTIFIED AND EUROPEANIZATION! EUROPAISCH UND ZERTIFIZIERT! CERTIFIÉ EUROPÉEN!



- Agilidad y personalización de servicios.
- Laboratorio y equipos preconcebidos.
- Etica profesional y el respeto al animal.
- Certificación ISO 9002 como prueba de confianza.

 **ELEVAGE  
JANVIER**

Route des Chênes Secs - BP 5  
53940 LE GENEST-ST-ISLE - France  
Tél. : + 33 (0) 2 43 02 11 91  
Fax : + 33 (0) 2 43 02 00 15  
E-mail : [service.commercial@elevage-janvier.fr](mailto:service.commercial@elevage-janvier.fr)



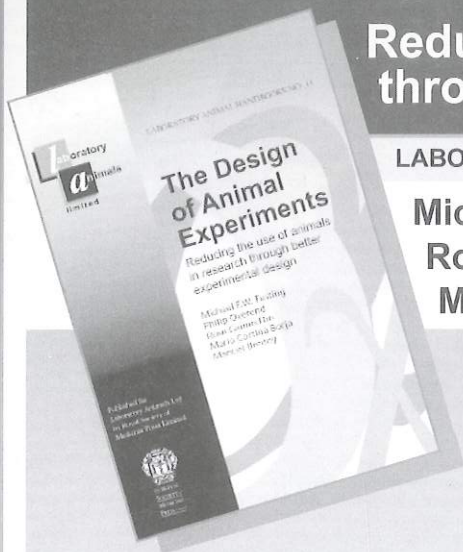
Representante en España:  
**JANVIER ESPAÑA, S.L.**  
Tembleque, 56. 28024 MADRID.  
Telf.: 91 711 25 53. Fax: 91 518 12 60

# The Design of Animal Experiments

## Reducing the use of animals in research through better experimental design

LABORATORY ANIMAL HANDBOOKS NO. 14

**Michael F W Festing, Philip Overend,  
Rose Gaines Das, Mario Cortina Borja,  
Manuel Berdoy**



Precio: £14.00/US\$28.00  
1-85315-513-6

Rústica, 120 páginas  
Enero 2002

Publicado por RSM Press en nombre  
de Laboratory Animal Ltd.

Cuando no hay alternativa al uso de animales de experimentación en investigación biomédica, es importante que los experimentos estén bien diseñados y analizados correctamente para alcanzar la mayor probabilidad de obtener resultados científicamente válidos. Los experimentos que utilizan un número demasiado pequeño de animales pueden fracasar a la hora de lograr efectos biológicos importantes, mientras que los que usan demasiados animales o los utilizan incorrectamente pueden someterlos a dolor, angustia o daño duradero innecesarios.

Este libro está dirigido a todos los investigadores científicos que utilizan animales de laboratorio, con el propósito de ayudarles a diseñar sus propios experimentos de un modo más efectivo y para mejorar su capacidad para comunicarse con profesionales de la estadística cuando tienen que diseñar experimentos más complejos. El libro cubre muchos aspectos del diseño experimental, tal como la elección del animal experimental, textos de estadística. Por el contrario, no cubre los diseños estadísticos o métodos estadísticos más avanzados, por lo que idealmente debería utilizarse junto con textos de estadística convencionales.

**Contenidos:** Agradecimientos; Prólogo; Principios básicos del diseño de los experimentos con animales; Elección del animal; Comprendiendo y controlando la variación; El diseño de experimentos; Determinación del tamaño de muestra; Presentación e interpretación de los resultados y toma de decisiones; Conclusiones: puesta en común del proyecto; Apéndice 1: notas breves sobre paquetes estadísticos; Apéndice 2 otras lecturas: Bibliografía; Índice

### For orders in the USA

return the form below to

Balogh International  
1911 North Duncan Road, Champaign  
Illinois, 61822, USA

Tel +1 217 355 9331; Fax +1 217 355 9413  
Or visit the website at [www.balogh.com](http://www.balogh.com)

### For all other orders

return the form below to

Marston Book Services  
PO Box 269, Abingdon  
Oxfordshire OX14 4YN, UK

Tel +44 (0)1235 465 500; Fax +44 (0)1235 465 555  
Or order online at [www.rsmppress.co.uk](http://www.rsmppress.co.uk)

The specifications in this advert, including price, format, extent, and month of publication, were accurate at the time of printing

### Please send me:

\_\_\_ copies of *The Design of Animal Experiments*

LA HANDBOOKS NO 14(1-85315-513-6) @ £14.00/US\$28.00

USA

- I enclose a cheque (payable to *Balogh International*)  
 Invoice me for (Invoicing for institutional customers only)  
 or please charge my account



VISA/MASTERCARD

TOTAL \$ \_\_\_\_\_

Other

- I enclose a cheque (payable to *Marston Book Services*)  
 Invoice me for  
 or please charge my account



VISA/MASTERCARD/AMEX/SWITCH (issue no \_\_\_\_\_)

TOTAL £ \_\_\_\_\_

### Add postage and packing:

(£2 per book UK, £3.50 Europe, £7.00 rest of world)

(USA orders \$6 per book for ground UPS)

TOTAL \_\_\_\_\_

Card no .....

Exp date ..... / ..... Signature .....

Name .....

Address .....

Country..... Post/ZIP code .....

Tel ..... Fax .....

If the credit card registered address differs from above please give details. ....

please tick this box if you do not wish to receive promotional material

01 LA 14

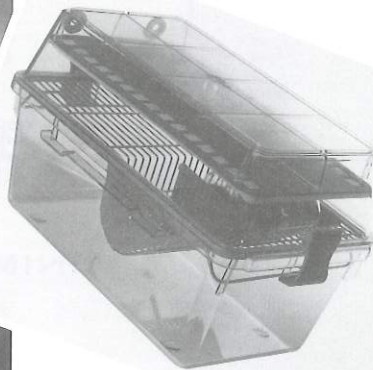
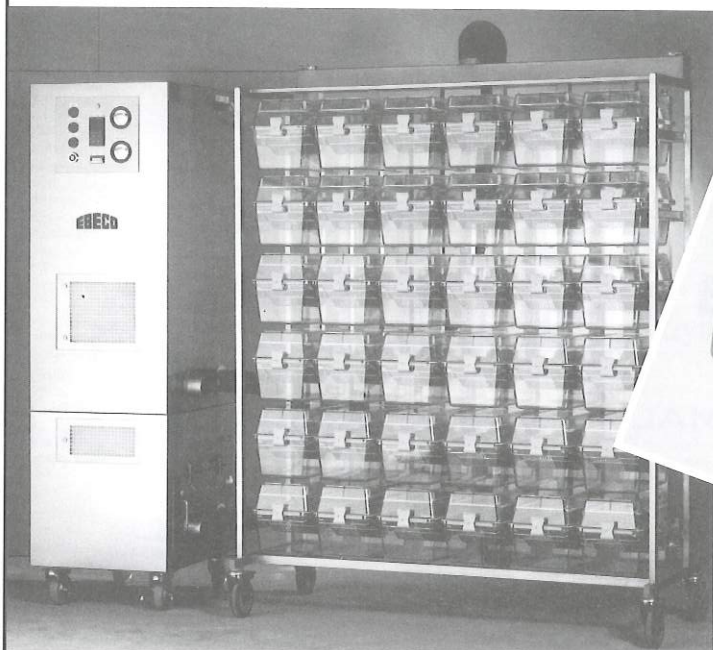


The ROYAL  
SOCIETY of  
MEDICINE  
PRESS Limited



# **EBECO** Jaulas Ventiladas en Rack **MIKROS-AS**

MIKROS-AS está disponible con el sistema de tubo único para presión positiva y también de doble tubo para presión positiva/negativa.



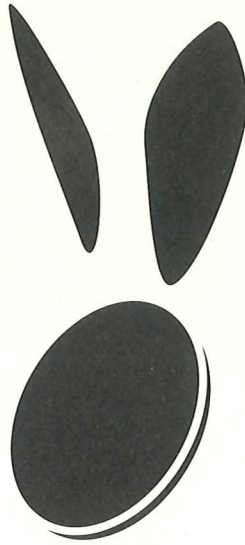
*También suministramos jaulas y equipos para  
toda clase de investigación animal.  
Por favor pregúntenos para más información.*

## **EBECO**

**E. BECKER & CO GMBH**

Hermannstrasse 2 - 8 · D-44579 CASTROP-RAUXEL  
Tel.: (+49) 23 05-97 30 40 · Fax: (+49) 23 05-97 30 444  
E-mail: [ebeco@t-online.de](mailto:ebeco@t-online.de)

Representante en España: **JANVIER ESPAÑA, S.L.**  
C/Tembleque 56 · 28024 MADRID · Telf. 91 7112553 · Fax 91 5181260



**Granja San Bernardo**

**M.D.L.**

**MINIMAL DISEASE LEVEL**

Granja San Bernardo S.L. Tulebras (Navarra) - ESPAÑA tño (948) 85 01 25 - fAX (948) 85 01 25

[www.masbytes.es/sanbernardo](http://www.masbytes.es/sanbernardo)

e-mail: [sanbernardo@masbytes.es](mailto:sanbernardo@masbytes.es)



## Animales de laboratorio



## Servicios transgénicos



## Control del estado sanitario y genético



## Servicios ensayos pre-clínicos



## Equipamiento para animalarios



## Huevos SPF



## Formación



## Dosificación endotoxinas/Test LAL



### CRIFFA

C/Paraires, 1-7 Nave 5  
Poligono Industrial Santiga  
08130 SANTA PERPETUA DE MOGODA  
BARCELONA  
Tel. : (34) 93 719 27 40 - Fax : (34) 93 729 03 66

  
**CHARLES RIVER**  
LABORATORIES

*Contributing to the Search for Healthier Lives™*

# Harlan

INTERFAUNA

## IBERICA, S.A.

