

ANIMALES DE LABORATORIO

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

1 NOTICIAS DE SECAL

- 53º CONGRESO DE AALAS:
EL CONGRESO DE LAS AMÉRICAS

2 ARTÍCULOS

- EL SAPO DE UÑAS SUDAFRICANO (XENOPUS LAEVIS)
COMO ANIMAL DE LABORATORIO
- MEJORAS EN LA SUPERVIVENCIA DURANTE Y
DESPUÉS DEL TRANSPORTE DE PECES
- ¿PORQUÉ EL PEZ CEBRA?
- LOS PECES EN LA EXPERIMENTACIÓN ANIMAL.
PATOLOGÍA DE PECES

3 NOTICIAS DE INTERÉS

- EL OTRO CONGRESO DE AALAS

4 LIBROS Y CONVOCATORIAS

5 VARIOS



MIEMBRO DE FELASA E ICLAS

**H
A
R
L
A
N**

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



¿ALOJAR ESPECIES ACUÁTICAS EN INSTALACIONES DISEÑADAS PARA MAMÍFEROS?

Dentro del grupo de especies utilizadas como animales de laboratorio los mamíferos son los más frecuentes. Sin embargo, los animales acuáticos y especialmente los peces, están siendo cada vez más utilizados dentro de la investigación biomédica tanto en estudios de desarrollo como en toxicología y protección del medio ambiente (son especialmente sensibles a las toxinas químicas). El porqué de este incremento en el uso de peces como animal de laboratorio está claramente expuesto por la Dra. Estepa, de la Universidad Miguel Hernández, en este número de la revista (pág. 14-18). Sin embargo una de las áreas en mayor expansión es la generación de peces transgénicos. En algunos estudios, este tipo de transgénicos podrían llegar a reemplazar a los mamíferos.

En la actualidad, se están utilizando diferentes especies de peces de tamaños y necesidades bastantes diferentes: pez cebra (zebra fish) o medaka (3-4 cm) o especies mayores carpa, salmón o trucha (más de 20cm). El anfibio más utilizado es el *Xenopus Laevis*. La utilización de embriones de esta especie en estudios de toxicidad es el tema principal del artículo del Dr. Borrás del Parc Científic de Barcelona (8-11)

La cría y mantenimiento de estas especies acuáticas no sólo implica la adaptación de unas instalaciones diseñadas para alojar mamíferos, sino también una formación específica del personal técnico y de los usuarios. Las necesidades de este tipo de animales están relacionadas con la regulación de la temperatura del agua, el aporte adecuado de agua salada o dulce, conveniente oxigenación, generación de corrientes de agua, dieta especializada y ciclos de luz adecuados. Existen empresas especializadas en la instalación y venta de acuarios para los diferentes tipos de peces que facilitan la adaptación de los centros diseñados para mamíferos a las especies acuáticas (Aquatic Habitats, Aquaneering, Aquanetics System, Marine Biotech).

La falta de proveedores que garanticen un estado sanitario adecuado de este tipo de especies y las complicaciones del transporte, pueden provocar la aparición de procesos patológicos que se propagan rápidamente a todos los individuos del mismo tanque. Por ello, es necesario que el personal técnico tenga un conocimiento básico de la fisiología de estos animales, sepa cómo realizar una toma de muestras o un estudio post mortem que facilite el diagnóstico. Un resumen de los procesos patológicos más frecuentes en peces se puede encontrar en el artículo de la Dra. Crespo de la Facultad de Veterinaria de la UAB (19-24). Internet es muy útil como fuente de información y un ejemplo es la página <http://zfin.org> dedicada exclusivamente al pez cebra.

En la actualidad, las especies acuáticas son el tercer gran grupo de especies utilizadas en investigación y en algunos países han incrementado su uso desde un 3% del total de animales de laboratorio en el año 1996 hasta un 8 % en el año 2002. Es de esperar que este incremento del uso de especies acuáticas llegue también a nuestros centros por lo que deberíamos poder adaptar parte de las instalaciones actuales pensadas para alojar a mamíferos, a la cría y mantenimiento de estas especies acuáticas.

JUNTA DE GOBIERNO DE LA SECAL

PRESIDENTE:

Jordi Cantó Martorell
U. Autònoma de Barcelona
Fax: 93 581 25 88
jordi.canto@uab.es

VICEPRESIDENTE:

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

SECRETARIA:

Nieves Salvador Cabos
Instituto S. R. Cajal, Madrid
Fax: 91 585 47 54
nieves@cajal.csic.es

VICESECRETARIO:

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

TESORERA:

Gloria Lete Vergara
Facultad Medicina y Odontología
UPV/E.H.V.
Fax: 94 464 81 52
lmzeveg@lg.ehu.es

VICETESORERA:

Pilar Bringas de la Lastra
Facultad de Medicina
Universidad Complutense, Madrid
Fax: 91 394 12 28
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

FONDO DE DOCUMENTACIÓN DE LA SECAL MATERIAL DISPONIBLE

FDV1:

ENVIRONMENTAL ENRICHMENT. ADVANCING ANIMAL CARE.

Duración de proyección: 38 min. - Año de producción. 1990.

Realizado: UFAW.

Producido: UFAW.

FDV1:

ENVIRONMENTAL ENRICHMENT. ADVANCING ANIMAL CARE.

Duración de proyección: 38 min. - Año de producción. 1990.

Realizado: UFAW.

Producido: UFAW.

FDV2:

EL REACTIVO BIOLÓGICO.

Duración: 20 min. - Año de producción: 1977.

Realizado: Alberto Giraldez.

Producido: Laboratorios Andreu.

FDV3:

TRABAJO Y SEGURIDAD EN LOS LABORATORIOS.

Duración: 12 min. - Año de producción: 1995.

Realizado y Producido: Dpto. Química Analítica. Univ de Valencia.

FDV4:

PROGRAMA DE GESTIÓN INTEGRAL DE RESIDUO BIOSANITARIO ESPECIAL.

Duración: 20 min. - Año de producción. 1991.

Producción: ATHISA. Granada.

FDV5:

MICROSURGERY ON THE LABORATORY RAT: PERMANENT CANULATION OF THE PORTAL VEIN.

Duración: 35 min. - Año de producción: 1994.

Realizado: Microsurgical Developments.

Producción: Microsurgical Developments. Maastricht.

P.O. Box 2045,6210CC. The Netherlands.

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, o disquete informático al Centro de Investigaciones Biológicas, Velázquez 144. 28006 – MADRID

FDV6:

EXPERIMENTS ON THE PHYSIOLOGY OF HEART AND CIRCULATION OF A RABBIT.

*Duración: 18 min.
Año de producción: 1990. Año de publicación: 1992.
Realizado: W. Trautwein, T. Doerr & R. Denger.
Producción: Institut für den Wissenschaftlichen Film, Göttingen.*

FDV7:

EXPERIMENTS ON THE ISOLATED HEART OF A RABBIT IN THE LANGENDORFF-APARATUS.

*Duración: 13 min. - Año de producción: 1990.
Año de publicación: 1992.
Realizado: W. Trautwein, T. Doerr & R. Denger.
Producción: Institut für den Wissenschaftlichen Film, Göttingen.*

FDV8:

EXPERIMENTS ON IMPULSE GENERATION AND IMPULSE CONDUCTION IN THE FROG-HEART.

*Duración: 14 min. - Año de producción: 1990.
Año de publicación: 1992.
Realizado: W. Trautwein, T. Doerr & R. Denger.
Producción: Institut für den Wissenschaftlichen Film, Göttingen.*

FDV9:

MICROSURGERY ON THE LABORATORY RAT. "GENERAL TECHNIQUES".

*Duración: 45 min. - Año de producción: 1994.
Realizado: Microsurgical Developments.
Producción: Microsurgical Developments. Maastricht.
P.O. Box 2045,6210CC. The Netherlands.*

FDV10:

TÉCNICAS DE MANIPULACIÓN Y VÍAS DE ADMINISTRACIÓN EN RATA Y RATÓN.

*Duración: 23 min. - Año de producción. 1991.
Realizado por: Vicente A. Vacas, M.J.García Chicano y J.M. Zúñiga.
Producción: Centro de Instrumentación Científica, Universidad de Granada.Edificio Mecenas . Granada.*

FDV11:

EMBRYO TRANSFER IN THE MOUSE.

*Duración: 20' 45" . - Año de producción. 1988.
Producción: F.Hoffmann- La. Roche Co. AG, Basel.*

FDV12:

NARKOSE-UND PRÄPARATIONSTECHNIK

*Duración: 31' 45" . - Año de producción. 1995.
Producción: F.Hoffmann- La. Roche Co. AG, Basel.*

FDV13:

BLUTENTNAAHMETECHNIK.

*Duración: 31' 45" . - Año de producción. 1995.
Producción: F.Hoffmann- La. Roche Co. AG, Basel.
Idioma: Alemán.*

FDV14:

APPLIKATIONSTECHNIK.

*Duración: 15' 55" . - Año de producción. 1995.
Producción: F.Hoffmann- La. Roche Co. AG, Basel.
Idioma: Alemán.*



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 · ldggrup.com

ACREDITACIONES: Generalitat de Catalunya: Junta de Sanjament, 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.



FDV15:

DIE GNOTOBIOTISCHE ABTEILUNG DES INSTITUTS
FÜR BIOL.-MED. FORSCHUNG.

*Duración: 21' 16". - Año de producción. 1995.
Producción: F.Hoffmann- La. Roche Co. AG, Basel.
Idioma: Alemán.*

FDV16:

HANDLE WITH CARE.

*Duración: 28' - Año de producción 1987
Producción: Glaxo Group Research in conjuncion with the
Institute of Animal Tecnology.*

FDV17:

PROCEDURES WITH CARE.

*Duración: 28' 18" - Año de producción 1987
Producción: Glaxo Group Research in conjuncion with the
Institute of Animal Tecnology.*

FDV18:

TRANSPLANTE INTESTINAL.

FDV19.

24 HOURS CONTINUOUS INFUSION OF DOGS AND MINIPIGS.

Producción: Ellegaard Gottingen Minipigs Denmark

FDV20:

INIA VIDEO CORPORATIVO. "NUEVO"

Producción: Centro de investigación en sanidad animal.

FDV21:

TÉCNICAS DE HISTOLOGÍA E CITOLOGÍA. "NUEVO"

Producción: "Centro de Biología Molecular Severo Ochoa"

FDV22:

EL CERDO Y LA INDUSTRIA CÁRNICA. "NUEVO"

*Producción: Grupo de investigación de cría y salud de ganado
porcino de la Universidad de Murcia.*

FDV23:

COLD SPRING HARBOR XENOPUS DEPELOPMENT "NUEVO"

Course --- Microtechnique Tape # 1

FDV24:

COLD SPRING HARBOR XENOPUS DEVELOPMENT "NUEVO"

Course --- Microtechnique Tape # 2

FDV25:

ANADE "NUEVO"

*Video sobre las instalaciones de esta empresa y del proceso de
tratamiento del vestuario*



MULTIMEDIA.....

FDCD1:

HANDLING, HUSBANDRY AND MINOR PROCEDURES VOLUME1 DISC3

FDCD2:

ANIMAL HEALTH AND WELFARE IMAGES. VOLUME1

FDCD3:

SURGERY. VOLUME1 DISC4

FDCD4:

ANESTHESIA IMAGES. VOLUME 1 AND 2

FDCD5:

CAREFUL HOW YOU HOLD ME

*An insight in to caring for laboratory animals.
A multimedia program for investigators, honours and postgra-
duate students, animal technicians and other new to the field of
laboratory animal science and animal welfare- a resource for
collective use or self paced learnig.*

*Cedido por: Lyndal R. Scott Animal Welfare Officer,
OFFICE OF THE DEPUTY VICE-CHANCELLOR
THE UNIVERSITY OF MELBOURNE*

FDCD6:

VETERINARY ANESTHESIA ON CD. "NUEVO"

FDCD7:

SURGICAL SKILLS. VOL 1- SERUBBING, GOWNING AND GLOVING. "NUEVO"

*Producción: The Neuroscience Centre, Merck Sharp and Dohme.
Comentarios:*

FDCD8:

SURGICAL SKILLS. VOL 2-HANDLING INSTRUMENTS AND SUTURING. "NUEVO"

Producción: The Neuroscience Centre, Merck Sharp and Dohm

FDCD9:

ANESTESIA DE ANIMALES DE LABORATORIO (PEQUEÑOS
MAMÍFEROS - PARTE 1) DISCO 8.

"Novedad, versión traducida al castellano."

FDCD10:

ANESTESIA DE ANIMALES DE LABORATORIO (PEQUEÑOS
MAMÍFEROS -PARTE 1) DISCO 10.

"Novedad, versión traducida al castellano."

FDCD11:

PAIN ASSESSMENT IN THE RAT VERSIÓN 2.

FDCD12:

Practical animal Handling. 1 Small Mammals.

FDCD13:

"PROXIMAMENTE " DIAPPOSITIVAS EN CD

1 Noticias de la SECAL

53º CONGRESO DE AALAS: EL CONGRESO DE LAS AMERICAS

Manuel Moreno

Fiel a su cita anual, el Congreso de la Asociación Americana para las ciencias del Animal de Laboratorio (AALAS), tuvo lugar este año en la ciudad de San Antonio, Texas.

A diferencia de la mayoría de ciudades estadounidenses, caracterizadas por su inmensidad, San Antonio es una ciudad relativamente pequeña y con un encanto impropio de estas latitudes. Sea por su origen mejicano o porque sus gobernantes han sabido valorar más lo estético que lo práctico, lo cierto es que San Antonio permanece como un remanso de paz dentro de un país dominado por grandes y despersonalizadas urbes. Entre los elementos que condicionan la vida de San Antonio

destaca en primer lugar el *Riverwalk*, el paseo del río, que quizás quedaría mejor definido como la *Riviera*. Se trata de un canal artificial que situado algo por debajo del nivel de la ciudad, cual si de un cañón se tratara, serpentea por el centro de la misma, permitiendo que desde sus orillas uno llegue a olvidarse de la ciudad que se encuentra apenas unos metros más arriba. Ambas orillas se encuentra salpicadas de locales para comer, beber, bailar ..., mientras se contempla el suave deslizarse de las barcas abarrotadas de turistas que, a la vez que surcan el río, desayunan, almuerzan, cenan o, simplemente, toman fotografías. Si a todo esto le añadimos un bonito puente aquí, una hermosa pradera arbolada algo más allá, un cascada de agua en otra parte y unas ardillas atrevidas correteando a tu alrededor mientras paseas, comprenderemos que uno a veces tenga que recordarse que se encuentra en los EE.UU. El segundo punto de atención es el histórico fuerte/misión de El Alamo, cuna de la independencia de Texas, que se hizo popular en todo el mundo gracias al cine. Aun sin poseer la grandiosidad que sus habitantes pretenden darle – por su valor arquitectónico difícilmente figuraría en ningún catálogo turístico europeo – no deja de ser el edificio más antiguo de la ciudad y su valor histórico para ellos es indudable. Pero lo que lo hace realmente destacable es el valor que la propia ciudad le concede considerándolo como su símbolo y objeto casi de culto. Menos reseñable, pero no carente de interés es *La Villita*, pequeño poblado de casas bajas dentro de la ciudad y “nido” de artesanos y artistas. Fuera de esto, la ciudad vuelve a presentar los elementos típicos del país: grandes avenidas con enormes edificios, si bien, mucho menos que en otros lugares, y aún aquí no falta la nota de color que le ponen los curiosos autobuses que recorren la ciudad, que recuerdan a los viejos tranvías, o quizás enormes diligencias con motor.



Vista del Riverwalk, el lugar más animado de la ciudad



Otra bella imagen del Riverwalk

Ya entrando en materia, habría que destacar también el Centro de Congresos de San Antonio, sino por su arquitectura, sí por su grandiosidad, sus comodidades y disponibilidad de medios y desde luego por su más que excelente sistema de aire acondicionado, que nos “enfrió” no pocas sesiones.

En cuanto a datos, los números siguen dejándonos claro que ésta es la reunión más importante del mundo relacionada con el animal de laboratorio: casi 3500 participantes, 427 stands representando a 208 empresas, 500 ponentes entre las 135 sesiones diferentes del programa científico, además de los 92 vídeos y 28 CD-Rom que podían visualizarse en cualquier momento. No puedo hacer una valoración de los temas expuestos porque he podido asistir a muy pocas sesiones y, de cualquier modo, con un programa tan amplio uno, necesariamente, tiene que perderse la mayor parte. En el capítulo de posters, como en los chistes, hay una parte mala y una buena. La mala es que solo se presentaban 175 posters, de acuerdo con el programa oficial, aunque algunos menos en la realidad. La buena es que, de los presentados, 49 pertenecían a los participantes latinoamericanos.

En el capítulo de actos genuinamente americanos, no podemos pasar por alto la Sesión Oficial de Apertura en la que, tras la habitual entrega de premios, el Dr. James H “Red” Duke, médico y cowboy, nos “deleitó” con una larga sesión científico?-humorística, aderezada con vídeos de sus aventuras de cowboy y de la que no pudimos entender ni una palabra, gracias a su magnífico acento tejano. Eso sí, los del país se lo pasaron

muy bien con los chistes. El acto terminó con el espectáculo circense de tres amazonas en el escenario del teatro montadas en sendos caballos, portando las respectivas banderas. La guinda corrió a cargo de una joven cantante que a *capella* nos cantó el himno nacional mientras los asistentes, puestos en pie, destilaban patriotismo. La sesión terminó con el desfile de todos los asistentes detrás de un grupo uniformado que a toque de bombo nos iban abriendo el camino hacia el supuesto ágape de la Recepción de Bienvenida que ofrecía la organización del congreso y que resultó ser una trampa para sacarnos los cuartos - y de qué modo - con las bebidas, para acompañar una casi imaginaria comida.

Si el premio limón se le hemos dado a la organización, el premio naranja podría ser para Harlan que, como viene siendo habitual se ocupó del traslado de los asistentes desde el aeropuerto hasta sus respectivos hoteles y de amenizarnos todas las noches.

Pero lo más atractivo para nosotros, lo que ha marcado un antes y un después en los congresos de la sociedad americana, ha sido la posibilidad de escuchar, por primera vez después de 53 años, sesiones en un idioma distinto del inglés,



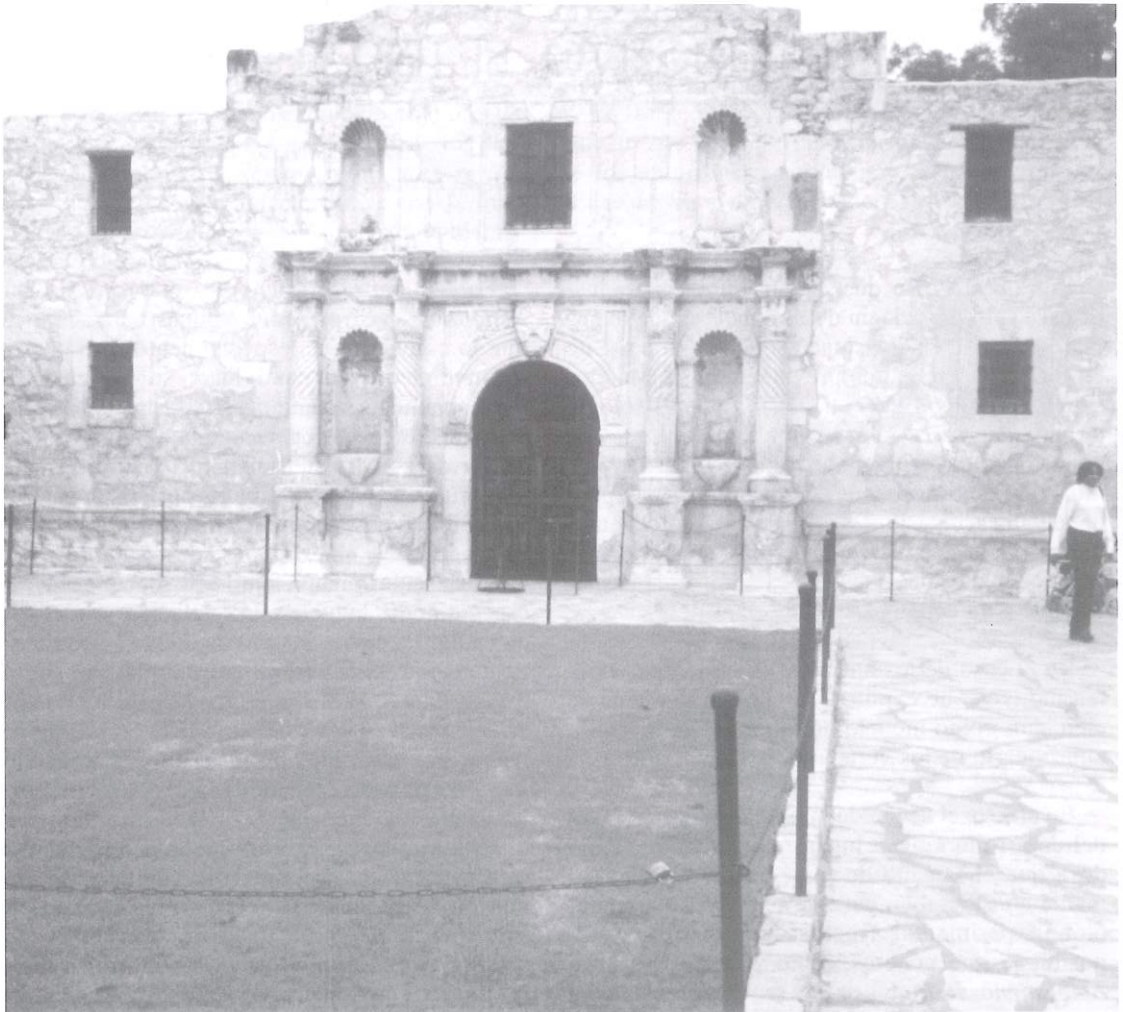
Uno de los típicos autobuses de San Antonio

como parte del programa oficial. El denominado Congreso de las Américas, haciendo honor a su nombre, ha hecho posible que, en determinadas sesiones, participantes de casi todos los países de América pudieran expresarse en su propia lengua.

La otra parte interesante fue la presencia de SECAL en el congreso merced a un acuerdo de la Junta de Gobierno con la sociedad inglesa Laboratory Animals. El acuerdo básicamente consistía en que habría un representante de SECAL en el stand informando en castellano, tanto sobre SECAL como sobre Laboratory Animals. Se llevaron y distribuyeron las separatas de los artículos de LA traducidos al castellano, especialmente de la última *Refinando los pro-*

cedimientos para la administración de sustancias, se mostraron ejemplares de los textos en los que SECAL ha participado de uno u otro modo y se dio amplia información sobre la existencia de la línea de correo electrónico Secal-I, que era uno de los proyectos de futuro que algunos reclamaban, invitándoles a participar en ella.

Por último debo decir que, en calidad de representante de SECAL, fui invitado a participar en la reunión de representantes de sociedades internacionales que organizaba el ICLAS, donde nuestra sociedad fue presentada como una de las más jóvenes de Europa y la más activa, hecho que, al parecer, ya conocían casi todos los presentes en la reunión y que fui acogido con mucha amabilidad solo por el hecho de pertenecer a la Sociedad.



El fuerte-misión de El Alamo, enseña principal de San Antonio

2 ARTÍCULOS

EL SAPO DE UÑAS SUDAFRICANO (XENOPUS LAEVIS) COMO ANIMAL DE LABORATORIO: APLICACIONES EN EL ESTUDIO DE LA TOXICIDAD SOBRE EL PROCESO REPRODUCTIVO. EL TEST FETAX.

Borràs, M., de Lapuente, J., Cruz, R.
*Unitat de Toxicologia Experimental i Ecotoxicologia
Parc Científic de Barcelona*

Entre las razones que suelen aducirse para justificar la elección de un determinado modelo animal se cuenta la existencia de una importante base de conocimientos previamente acumulados sobre la biología general, anatomía y fisiología de la especie, así como sobre su respuesta en situaciones experimentales; ahora bien, la acumulación de este *corpus* de conocimiento depende de unas decisiones iniciales que frecuentemente obedecen más a consideraciones de tipo práctico, o aún a circunstancias puramente casuales, que a un detenido análisis científico.

En el caso de los anfibios, sin embargo, existen motivos que explican su uso durante más de cien años como modelo preferente del desarrollo embrionario de los vertebrados (Nadal, 2001).

En efecto, el hecho de que estas primeras fases del desarrollo tengan lugar externamente, sumado a que el tamaño de los embriones, relativamente considerable, permite una fácil manipulación experimental (incluso microquirúrgica), posibilitó que géneros como *Rana*, *Triturus* o *Ambystoma* se convirtieran en piezas clave de este tipo de estudios.

Por su parte, el sapo de uñas sudafricano, *Xenopus laevis*, presenta algunas características que lo convierten en especialmente apto para su mantenimiento en cautividad: su carácter casi exclusivamente acuático permite mantenerlo sin dificultad en acuarios, no requiere el uso de presas vivas para su nutrición (al contrario que la mayoría de los otros anfibios) y tolera una amplia variabilidad en sus condiciones de vida.

El descubrimiento, en 1930, de que en esta especie podía inducirse la ovulación y la cópula en cualquier época del año mediante la inyección de gonadotropina permitió diseñar un test simple de embarazo en humanos (Bellerby, 1934; Shapiro et al., 1934). El "test de la rana", rápidamente popularizado, propició la cría y uso de *Xenopus* en todo el mundo.

Esta circunstancia explica la persistencia de esta especie como animal de laboratorio y los numerosos modelos experimentales que en ella se basan, a pesar de que, a principios de los sesenta, su utilización como indicador del embarazo cayera en desuso ante el desarrollo de técnicas más sensibles.

Actualmente los embriones de *Xenopus* constituyen un sujeto experimental con múltiples aplicaciones (un buscador de internet localiza más de 15400 entradas para la búsqueda “*Xenopus embryos*”), que van desde la investigación en neurobiología hasta estudios de expresión génica, de apoptosis o de biología celular. Únicamente en el campo de la manipulación genética *X. laevis* se ha mostrado inadecuado, debido a su condición tetraploide, siendo en la actualidad substituido en este terreno con gran ventaja por otra especie estrechamente relacionada, el sapo de presas africano (*Xenopus tropicalis*).

Particular interés presenta el uso de embriones de *Xenopus* para la detección y caracterización de efectos tóxicos sobre el proceso reproductivo.

EL TEST FETAX

Entre los tests diseñados con este objeto cabe señalar los que se centran en el estudio de los disruptores endocrinos (*Xenopus Tail Resorption Assay*, que detecta las interferencias con la función tiroidea, o *Vitellogenin Assay*, para la identificación de compuestos con actividad estrogénica) o un ensayo específico para las malformaciones en las extremidades (*Xenopus Limb Bud Assay*) (Fort et al., 1998).

Especialmente relevante resulta el denominado *Frog Embryo Teratogenesis Assay - Xenopus* (FETAX), diseñado como un test complementario de teratogenia, que a las ventajas derivadas de su rapidez y economía añade las de ser extrapolable a otras especies (incluyendo a los mamíferos) y de ser considerado, a efectos legales, como test *in vitro*. Esta técnica está siendo actualmente implementada en nuestro laboratorio.

Se trata de un test ampliamente utilizado, cuyo protocolo ha sido revisado y estandarizado recientemente por un panel de expertos bajo los auspicios de ICCVAM (Fort y Stover, 2000), así como por otras agencias reguladoras, como la EPA (Claudio et al., 1999). Por otro lado, ya existe un protocolo normalizado por la American Society for Testing and materials (ASTM, guideline E 1439 - 98, “Standard Guide for Conducting the Frog Embryo Teratogenesis Assay-Xenopus (FETAX)”).

Para este ensayo los machos han de medir de 7.5 a 10 cm (mínimo 2 años de edad), mientras que las hembras deben situarse entre 10 a 12.5 cm (mínimo 3 años de edad). Las hembras son de mayor tamaño y poseen labios cloacales.

La cría se realiza en parejas monógamas, a una temperatura del agua de 21 ± 2 °C, con un fotoperíodo de 12 horas de luz y 12 de obscuridad. La inducción a la cópula se realiza mediante una inyección de 250-500 UI (para los machos) o de 500-1000 UI (en el caso de las hembras) de gonadotropina coriónica humana. Las dosis menores se administran en el período de primavera-verano, mientras que las superiores se reservan para el otoño-invierno.

Una vez realizada la puesta, se procede a separar la cubierta gelatinosa de la misma mediante agitación suave en una solución de cisteína; posteriormente se seleccionan para su uso los embriones en los estadíos 8 a 11, procediéndose a una doble selección para asegurar la inclusión únicamente de embriones normales. La datación de los embriones se realiza de acuerdo con las tablas de Nieuwkoop y Faber (1975).



Figura 1.- *Xenopus laevis* (Daudin), macho y hembra

En síntesis, el test consiste en someter a los embriones a diversas concentraciones del producto en estudio, más un control negativo y un control positivo (el tóxico de referencia suele ser 6-aminonicotinamida). Normalmente se realizan tres replicados completos, cada uno de ellos por duplicado (con y sin sistema de activación meta-

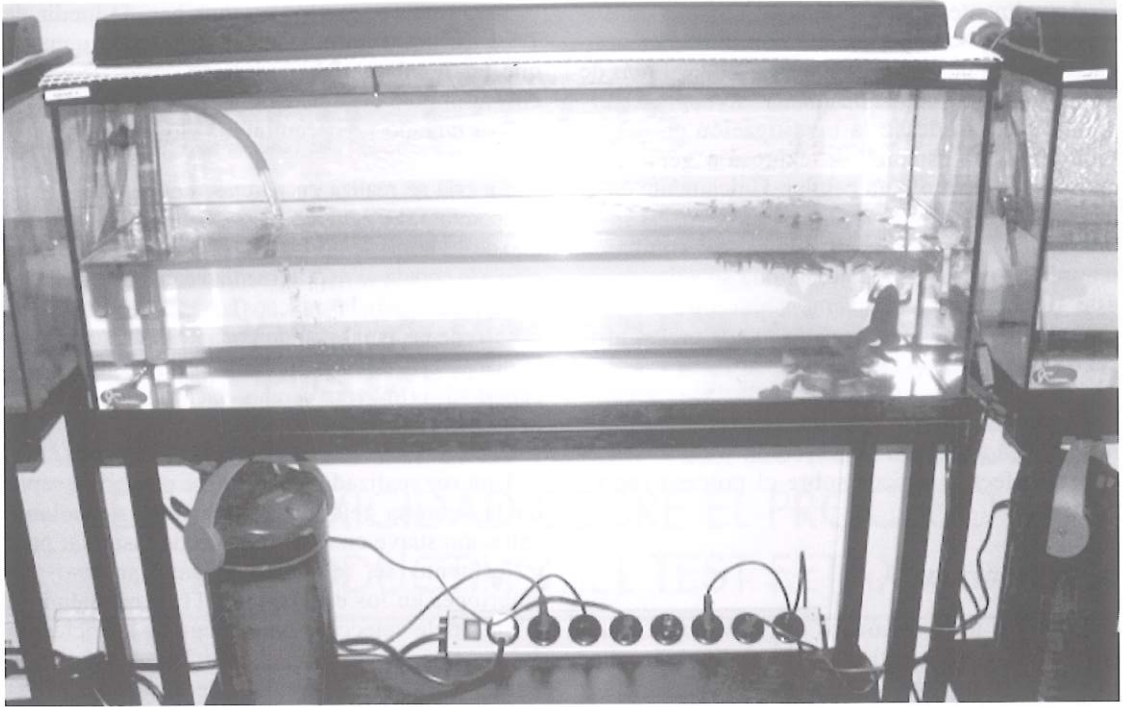


Figura 2.- Instalación de acuarios (Servicio de Experimentación Animal, Parc Científic de Barcelona)

bólica) usando embriones (25 por grupo) procedentes de parejas distintas. De cada concentración, a su vez, se realizan dos replicados.

Al cabo de 96 horas (o cuando los embriones del grupo control hayan alcanzado en más de un 90% el estadio 46) se calcula la concentración letal cincuenta (LC_{50}) y la concentración efectiva cincuenta (EC_{50}) (concentración que causa malformaciones en el 50% de los embriones). A partir de estos datos se calcula un índice de teratogenia (TI), que es el cociente LC_{50}/EC_{50} . La inhibición del crecimiento, a su vez, se determina midiendo la longitud cabeza/cola de cada embrión, y comparando con el grupo control. Por otra parte, otras observaciones, referidas a la pigmentación, a la locomoción, eclosión de los huevos, etc., pueden también servir para ampliar la información obtenida con este test.

Las malformaciones pueden ser tanto externas como internas, y se refieren principalmente a la cara, la cola, el ojo, las branquias, el intestino, el corazón, el cerebro y la notocorda.

La determinación de las anomalías de los fetos se realiza mediante observación bajo un micros-

copio estereoscópico, de acuerdo con las descripciones del atlas de Bantle et al. (1991).

Mediante el uso de este protocolo completo, se calcula que el valor predictivo del método es de un 85 %, alcanzándose un 95 % si se utiliza un sistema apropiado de activación metabólica (que, por otra parte, es imprescindible si se desea extrapolar los resultados a los mamíferos) (Fort *et al.*, 1999, 2000^a, 2000^b).

Este ensayo puede ser de gran interés como una prueba complementaria en los estudios de reprotoxicidad durante el desarrollo de fármacos, así como también en la fase de *screening* (en cuyo caso cabría la adaptación a un protocolo abreviado, con objeto de alcanzar un compromiso adecuado entre predictividad, economía y rapidez). Igualmente resulta idóneo para estudios de toxicidad ambiental (Prati *et al.*, 2000).

REFERENCIAS:

Bantle, J.A., Dumont, J.N., Finch, R.A. and Linder, G., *Atlas of Abnormalities: A Guide for the Performance of FETAX*, Oklahoma State Publications Department, 1991

Bellerby, C.W., Nature 133, 494-495, 1934

Claudio L, Bearer CF, Wallinga D. Assessment of the U.S. Environmental Protection Agency methods for identification of hazards to developing organisms, Part II: The developmental toxicity testing guideline. *Am J Ind Med*, 35(6):554-63 (1999)

Fort DJ, Stover EL. ICCVAM evaluation of FETAX: an update. *Teratology*, 61(6):484 (2000)

Fort DJ, Stover EL, Bantle JA, Finch RA. Evaluation of the developmental toxicity of thalidomide using frog embryo teratogenesis assay-xenopus (FETAX): biotransformation and detoxification. *Teratog Carcinog Mutagen*, 20(1):35-47 (2000b)

Fort DJ, Propst TL, Stover EL. Evaluation of limb teratogens in the environment using a 30-day Xenopus laevis model. *Teratology*, 57(4/5):219 (1998)

Fort DJ, Stover EL, Farmer DR, Lemen JK.

Assessing the predictive validity of frog embryo teratogenesis assay-Xenopus (FETAX). *Teratog Carcinog Mutagen*, 20(2):87-98 (2000a)

Fort DJ, Stover EL, Farmer DR, Lemen JK. The predictive validity of frog embryo teratogenesis assay - Xenopus (FETAX): utility and application. *Teratology*, 59(6):383 (1999)

Nadal, J., *Vertebrados*, 1st Ed., Ediciones Omega and Edicions de la Universitat de Barcelona, 2001

Nieuwkoop, P.D. and Faber, J., *Normal Tables of Xenopus laevis* (Daudin), 2nd Ed., North Holland, Amsterdam, 1975

Prati M, Biganzoli E, Boracchi P, Tesauro M, Monetti C, Bernardini G. Ecotoxicological soil evaluation by FETAX. *Chemosphere*, 41(10):1621-8 (2000)

Shapiro, H.A. and Zwarenstein, H., Nature, 133, 762, 1934



Figura 3.- Elementos de enriquecimiento del medio (Servicio de Experimentación Animal, Parc Científic de Barcelona)

MEJORAS EN LA SUPERVIVENCIA DURANTE Y DESPUÉS DEL TRANSPORTE DE PECES.

Jordi Guinea. Servicio de Estabulario de la División III
Universidad de Barcelona.

Al considerar el conjunto de los animales de laboratorio o experimentación, los peces, al igual que otras especies como los anfibios y los reptiles, son un grupo minoritario si se compara por ejemplo con los roedores. Desde hace muchas décadas se vienen realizando estudios científicos, especialmente en especies de interés comercial, con vistas a su aprovechamiento en piscicultura. Tal es el caso del salmón y la trucha y posteriormente el de otras especies como la dorada, la lubina o el rodaballo. Sin embargo, más recientemente, los investigadores han descubierto un gran potencial en especies de agua dulce de pequeño tamaño como el pez zebra (*Bachydanio rerio*) o el medaka (*Oryzias latipes*). Estas y otras especies similares tienen interés en estudios de biomedicina y genómica; también empiezan a generarse transgénicos y no hay que olvidar los ensayos ya clásicos de toxicología acuática.

No obstante, a pesar de este auge, es difícil encontrar un proveedor que suministre los peces de una manera similar a como estamos acostumbrados con los roedores, por lo que en general es el propio investigador quien se encarga del transporte.

EL TRANSPORTE

En el caso de peces de pequeño tamaño (zebra, medaka) o alevines de especies mayores se suele emplear bolsas de plástico más o menos rígido que de alguna manera se puedan cerrar herméticamente. Se recomienda utilizar el agua en la que se encuentran los peces a transportar en su lugar de origen, a fin de evitar cambios bruscos y generar estrés. Al contrario de lo que se podría pensar de forma intuitiva, no es una buena idea llenar completamente de agua la bolsa de transporte. El oxígeno es un gas que se disuelve relativamente mal en el agua y por tanto la cantidad disponible para los peces sería baja. Por el contrario, es mejor llenar solamente un 20% con agua y el resto con oxígeno puro. De esta mane-

ra se dispone de un reservorio de oxígeno que irá difundiendo al agua lentamente conforme los peces consuman el disuelto.

Otro aspecto a controlar es la temperatura. Cada especie tiene un rango de temperaturas óptimo que conviene no superar durante el transporte. Sin embargo, si que puede ser aconsejable disminuir la temperatura algunos grados para reducir el metabolismo y por tanto el consumo de oxígeno; si no se dispone de vehículo con refrigeración se pueden colocar las bolsas en agua enfriada con hielo. También es importante evitar cambios bruscos de temperatura al transferir los peces desde el agua de transporte a la del acuario de recepción. Para ello se puede añadir agua del acuario de destino al agua de transporte, o bien, dejar flotar la bolsa de transporte en el acuario de destino para que se igualen las temperaturas. De esta manera, normalmente, el número de bajas es mínimo.

En el caso de peces de mayor tamaño (dorada, trucha) existe una mayor complicación. Para el transporte se suelen emplear bidones o recipientes de plástico de unos 50 litros, con tapa más o menos hermética –es un volumen de agua importante pero al mismo tiempo manejable; funcionan muy bien los que tienen tapa con sistema de cierre de ballesta-. Además de las recomendaciones para el agua y la temperatura, comentadas anteriormente, sin olvidar la salinidad en el caso de especies marinas, es necesario un aporte continuo de oxígeno. Para lo cual se emplea una bombona de oxígeno comprimido conectada a los bidones mediante un simple tubo de aireación de los empleados en acuarios domésticos a través de un pequeño orificio practicado en la tapa, con su correspondiente piedra difusora. Es importante lastrar las piedras difusoras para asegurarse que permanezcan en el fondo de los bidones. También es conveniente disponer de llaves reguladoras o estranguladores para poder distribuir bien el oxígeno en caso de que varios bidones compartan una misma bombona.

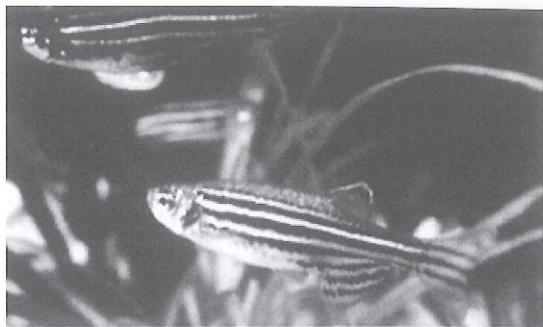
En relación con el número de peces a introducir en los bidones es obvio que dependerá del tamaño de los mismos, pero es recomendable no superar los 2-3 kg. por bidón, teniendo en cuenta que el consumo de oxígeno aumenta al disminuir el tamaño de los peces.

Mediante el método descrito la mortalidad producida durante el transporte suele ser baja y, aparentemente, la operación de transporte todo un éxito. Los problemas aparecen cuando a los pocos días se produce la muerte sucesiva de algunos ejemplares. Observando con atención a los peces es fácil visualizar contusiones en los hocicos, roturas y deshilachamientos en las aletas, especialmente en la caudal, y heridas o escoriaciones en los flancos. La integridad de la piel y de la capa de moco que la recubre en los peces es primordial para evitar infecciones de bacterias y hongos. Por este motivo, los daños producidos durante el transporte, junto con la posible inmunodepresión por estrés suelen ser los desencadenantes de la mortalidad antes mencionada. No hay que olvidar la manipulación, por lo que es beneficioso utilizar salabres de malla fina y suave. Esta problemática suele subsanarse fácilmente sedando o anestesiando ligeramente a los animales.

LA SEDACIÓN Y LA ANESTESIA DE BAJO NIVEL DURANTE EL TRANSPORTE.

El uso de sedación o de anestesia ligera durante el transporte incrementa significativamente la supervivencia de los peces durante y después del transporte. Los motivos son por una parte, la disminución de la tasa metabólica y del estrés con el consiguiente descenso del consumo de oxígeno, evitándose así la hipoxia; y por otro, la restricción de la actividad y del movimiento, reduciendo los golpes y las lesiones en las aletas y en la superficie del cuerpo y por tanto el riesgo de infección.

La administración de sedación o anestesia en los peces es sencilla, ya que se realiza por inmersión, es decir, se coloca al animal en agua que contiene la dosis correspondiente del producto, el cual se absorbe principalmente a través de las branquias. Los sustancias más empleadas son el metanosulfonato de triclaína, más conocido como MS-222, y el etil aminobenzoato o benzocaína. Las dosis son altamente dependientes de la especie en cuestión, por lo que es muy recomendable



realizar pruebas previas hasta dar con la dosis adecuada. En el caso del MS-222, se consigue anestesia quirúrgica con dosis comprendidas entre 25 y 300 mg/l en función de la especie, con un tercio o la mitad de la dosis quirúrgica se consigue sedación. En trucha, carpín dorado y especies similares se consigue sedación con 30-50 mg/l. La benzocaína es más engorrosa de manejar ya que es insoluble en agua y hay que preparar soluciones frescas disolviéndola previamente en acetona. Se suele conseguir sedación con dosis de 25 mg/l. Algunas especies como las tilapias requieren doblar la dosis. Ambos productos son ligeramente ácidos por lo que se aconseja neutralizarlos con bicarbonato sódico ajustando el pH a 7,5. No obstante, si es complicado hacer la neutralización "in situ" se puede prescindir de este paso ya que la cantidad de producto que se requiere para la sedación es relativamente pequeña. También es conveniente ayunar a los animales 24-48 horas ya que pueden vomitar, lo que puede interferir con el normal funcionamiento de las branquias.

El grado o profundidad de la sedación y/o anestesia se controla observando el comportamiento del pez. La sedación se reconoce por una disminución de la actividad motora y el inicio de la pérdida del equilibrio, si bien al principio puede observarse cierto grado de excitación. Si se ha utilizado una dosis elevada capaz de inducir anestesia quirúrgica, por ejemplo para realizar un transporte muy corto o para una intervención, tras la sedación y conforme aumenta el plano de la anestesia, la pérdida de equilibrio es cada vez más manifiesta, lo que se traduce en una natación errática en la que el pez es incapaz de mantener la dirección, la profundidad y su verticalidad. Finalmente, el animal pierde totalmente el equilibrio y el control sobre la natación, permaneciendo en el fondo, inmóvil, en posición invertida y

manteniendo un suave y regular movimiento de opérculos. El cese de movimiento opercular es indicativo de sobredosis y si no se actúa con rapidez conlleva la muerte.

La recuperación se consigue simplemente transfiriendo a los peces a agua libre de anestésico. En caso de que se requiera resucitación hay que mover al animal hacia delante y hacia atrás con la boca abierta dentro del agua para lavar las branquias.

La supervivencia de los peces después de su transporte no solo depende de que éste se haga correctamente, si no que también es imprescindible un continuo y adecuado control de la calidad del agua, pero esto es otra historia...

BIBLIOGRAFÍA.

Flecknell, P.A. (1996). Anestesia de animales de laboratorio. Introducción práctica para investigadores y técnicos. Editorial Acribia.

Hawkins, A. D. (1981). Aquarium Systems. Academic Press. London.

Ross, L.G., Ross, B. (1999). Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals. Blackwell Sci, Oxford.



¿PORQUÉ EL PEZ CEBRA?

Estepa, A.

*Instituto de Biología Molecular y Celular,
Universidad Miguel Hernández. 03202-Elche (Alicante). España*

LOS PECES COMO MODELO DE ESTUDIO EN LA BIOLOGÍA DE LOS VERTEBRADOS

A menudo se dice que la secuenciación completa del genoma humano ha conducido a la ciencia a la "era post-genómica" [1]. Si desde el punto de vista de la biología admitimos esta afirmación, hemos de darnos cuenta que este hito histórico también señala la entrada en "la era de la genómica comparada".

El cada vez más creciente interés por los estudios de genómica comparada utilizando animales modelo, radica en su capacidad para ofrecernos importante información sobre bases genéticas comunes implicadas en los mecanismos básicos de la fisiología, comportamiento, memoria, aprendizaje, estrés, enfermedades, etc., y por ello durante las próximas décadas asistiremos a una desenfundada carrera por la secuenciación y análisis de los genomas de numerosos vertebrados. Sin embargo, todo este esfuerzo no nos permitirá

generalizar los resultados obtenidos, si previamente no se ha efectuado una juiciosa elección de los modelos animales a utilizar en los análisis genómicos [1].

Formalmente, "sistema modelo" u "organismo modelo" es la denominación que se aplica en biología a las especies animales que se estudian en detalle y que se utilizan como base para generalizar cómo ocurren determinados procesos biológicos [2] en el resto de las especies relacionadas. Pero, ¿existe realmente una especie modelo?. En realidad no. Depende del tipo de estudios que se quieran realizar y de hasta dónde queramos generalizar los resultados obtenidos.

Entre los distintos grupos de vertebrados candidatos a ser considerados "organismos modelo" para muchas de las disciplinas de la biología, los peces teleosteos (peces óseos) ocupan una de las primeras posiciones. Filogenéticamente hablando, constituyen el grupo de vertebrados más anti-

guo (unos 500 millones de años) y diverso que se conoce [3] [4]. Agrupan aproximadamente unas 18.000 especies (un orden de magnitud más que los mamíferos) [1] y colonizan habitats muy diversos, por lo que han tenido que desarrollar estrategia evolutivas muy variadas.

De estos tres rasgos evolutivos podemos ya señalar tres de las ventajas que poseen los peces como animales de experimentación,

1.-Ofrecen una gran cantidad de modelos alternativos. Su divergencia evolutiva y extrema diversidad proporciona una abundante fuente de genomas distintos donde buscar y encontrar todas las posibles combinaciones estructura-función que han ocurrido en la naturaleza durante los últimos 400 años [1].

2.-Son adecuados tanto para la experimentación de campo como la de laboratorio [3]. Se adaptan fácilmente a la vida en cautividad y pueden mantenerse en los acuarios sin demasiados requerimientos técnicos.

3.-Su adquisición y mantenimiento son mucho más económicos que la de cualquier ave, anfibio, mamífero, etc, utilizado en experimentación [3].

Aunque con distinta finalidad, son muchas y variadas las especies de peces que se han utilizado y aún se utilizan en investigación (tabla 1), nos vamos a centrar en una especie perteneciente al grupo de los peces teleósteos, El PEZ CEBRA (*Danio rerio*), que en estos momentos está considerada el modelo por excelencia en el estudio de la biología de vertebrados [5].

EL PEZ CEBRA Y LA BIOLOGÍA DE LOS VERTEBRADOS

En los últimos años se ha avanzado notablemente en la comprensión del desarrollo y genética de los vertebrados y en gran medida el pez cebra es responsable de ello. Básicamente porque a partir de él, y con relativa facilidad, pueden generarse colecciones de mutantes cuyo fenotipo puede ser analizado *in vivo* (en el propio animal) durante las etapas tempranas del desarrollo [6]. Alterar la función de un gen y observar el fenotipo que produce es una de las mejores alternativas para poder establecer cual es su función y qué papel tiene en el desarrollo o funcionamiento de

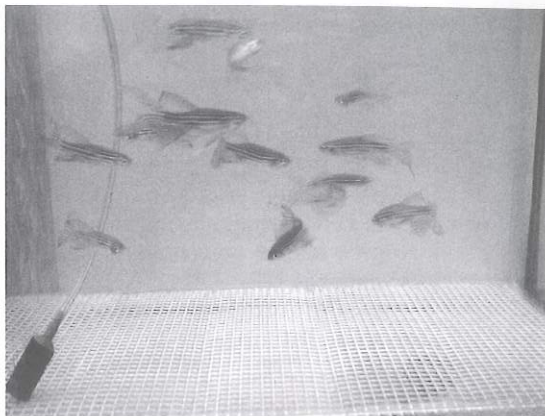


Figura 1. Peces adultos de pez cebra. Las condiciones de cría y mantenimiento de estos peces cebra en acuarios de laboratorio fueron, aproximadamente 30 peces adultos/20 litro de agua a 25-28°C, alimentados con comida seca.

un organismo. Cuando tras inducir una mutación (mediante sustancias químicas [7], clonaje posicional [8], retrovirus genéticamente modificados [9], etc) el fenotipo mutante generado resulta de interés, se procede a localizar la mutación en el genoma y posteriormente a su clonaje [10]. Mediante estas aproximaciones experimentales, se han desvelado importantes datos acerca de la formación y función de tejidos, órganos y redes neuronales e incluso mecanismos genéticos implicados en enfermedades humanas [11]. Además, estos análisis en pez cebra están constituyendo un complemento esencial del “proyecto genoma humano” [12], ya que en estos momentos nos encontramos con todos sus genes secuenciados pero sin conocer la función de prácticamente ninguno de ellos.

¿Qué características posee el pez cebra frente a otros modelos que también permiten un sencillo análisis de genotipos mutantes (gusano y mosca de la fruta), para que a partir de él se puedan generalizar datos sobre el desarrollo de vertebrados e incluso servir de modelo para el estudio de enfermedades humanas ?.

1.-Es un teleósteo diploide y su patrón de desarrollo es similar al de los vertebrados [13] superiores incluidos los mamíferos y por lo tanto el hombre. El modelo *Caenorhabditis elegans* (nematodo)/ *Drosophila* (mosca) deja montones de cuestiones por resolver porque la cresta neural, la notocorda, el páncreas endocrino y exocrino, etc, son “inventos” de los vertebrados. De hecho, en un principio “el sistema pez cebra” fue establecido

como un puente para cubrir las lagunas existentes entre los modelos *Drosophila/Caenorhabditis elegans* y ratón/hombre [6, 14] [15].

2.-Se ha demostrado la existencia relaciones sinténicas entre los genomas humanos y de pez cebrá [16] [12] y por ello la mutación de genes ortólogos en pez cebrá puede dar lugar a fenotipos similares a los que se presentan en muchas enfermedades humanas [17].

Frente al resto de los modelos de vertebrados posee como ventajas:

1.-Su pequeño tamaño (aproximadamente 2,5 cm) permite mantener un elevado número de ejemplares en espacios relativamente pequeños [14] [15] [6]. *Fig. 1*

2.-Una sola hembra madura puede poner desde docenas a cientos de huevos [18] [14] [6] [15] por lo que se puede disponer de elevadas cantidades de material genético uniforme

3.-La fertilización de los huevos es externa por lo que no se necesitan posteriores manipulaciones del embrión. De esta manera, se suprime la problemática que plantea en mamíferos el tener que implantar posteriormente los embriones en el útero de hembras pseudopreñadas.

4.-Tanto el tiempo de desarrollo del embrión completo (72h) (*Fig. 2*) [19] como el que transcurre entre distintas generaciones es muy corto [20] (2-3 meses) [21]. Además, se pueden controlar las puestas modificando las temperatura y/o fotoperiodo [22, 23].

5.-Los embriones son transparentes [14, 18, 19] [5] [17] [24] por lo que se permite el análisis no invasivo del embrión y el seguimiento de la expresión génica a tiempo real (en el animal vivo según se desarrolla).

6.-Son más baratos de obtener y mantener que los mamíferos [25].

En la actualidad son incontables las investigaciones sobre embriología del desarrollo, toxicología, carcinogénesis, desordenes genéticos, etc. que utilizan como modelo de estudio el pez cebrá, y los logros obtenidos a partir de ellas, imposibles de relatar. A modo de ejemplo vamos a citar la

enfermedad de *La Anemia Sideroblástica Congénita*, en el que se refleja claramente el potencial del pez cebrá como modelo de estudio de enfermedades humanas.

Mediante clonaje posicional se aislaron en zebrafish un conjunto de genes denominados *Sauternes* (Sau). Fenotípicamente, los mutantes Sau de zebrafish presentan bajos niveles de hemoglobina aunque el número de células rojas circulantes en el torrente sanguíneo es normal. Tras un intensivo estudio se demostró que este fenotipo mutante se debe a un defecto en el gen de la enzima d-aminolevulinato sintetasa (ALAS-2) que regula el primer paso en la biosíntesis del grupo hemo en los glóbulos rojos embrionarios. Los pacientes humanos de Anemia Sideroblástica Congénita también son deficientes en la enzima ALAS-2 y sus eritrocitos, al igual que los del pez cebrá, hipocrómicos por deficiencias en la síntesis de hemoglobina [14]. Para esta grave enfermedad, es la primera vez que se ha podido establecer un modelo animal de estudio.

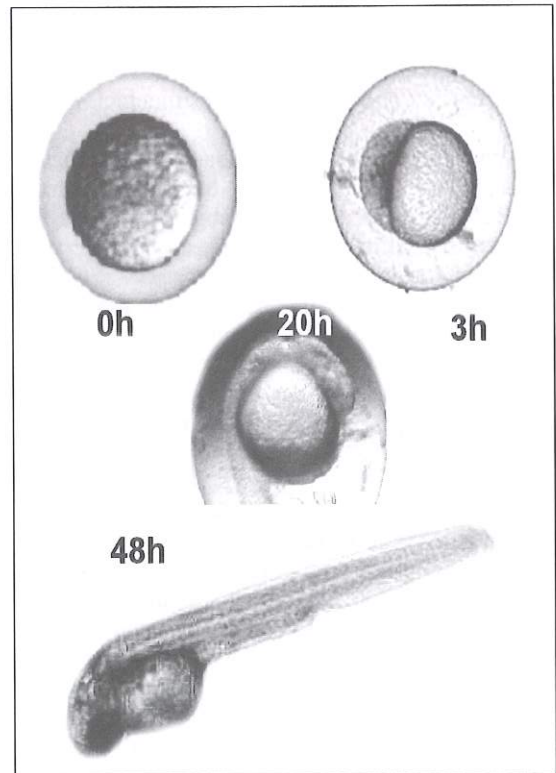


Figura 2. Aspecto del embrión de pez cebrá en distintas etapas del desarrollo. 0h hace referencia al huevo inmediatamente antes de ser fecundado.

Lechos de chopo para animales de investigación



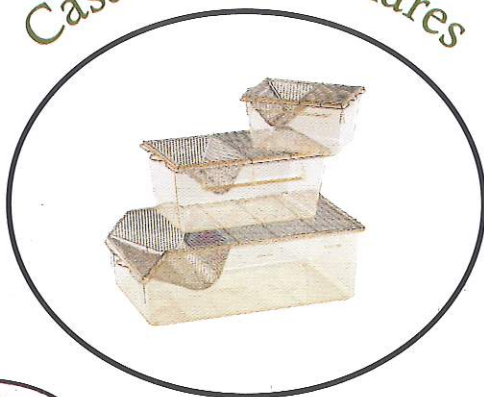
SOURALIT, S.L.

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: souralir@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
Web site: www.panlab-sl.com

Laboratory

Animals

<http://www.lal.org.uk>

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

Estos interesantes 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 (Federación de Asociaciones Europeas de las Ciencias del Animal de Laboratorio) sobre los Estudios y la Formación de las Personas que Trabajan con Animales de Laboratorio: CATEGORIAS A Y C”.***
- ***“Recomendaciones de FELASA para los Controles de Sanidad en Unidades de Experimentación de Ratones, Ratas, Hámsters, Gerbos, Cobayas y Conejos”.***
- ***“Recomendaciones para la Eutanasia de los Animales de Experimentación”***
- ***“Refinando los procedimientos para la administración de sustancias”***

Puede bajarlos de la red en <http://www.secal.es> o solicitar copias gratuitas en la Secretaría de SECAL.

Secretaría de la SECAL. Facultad de Medicina de la UAM. C/ Arzobispo Morcillo, 4. C.P.: 28029-MADRID. E-mail: cfcriado@uam.es
Tel +34 91 397 5476. Fax: +34 91 397 5353

Editado por:



Publicación patrocinada por:



AGRADECIMIENTOS

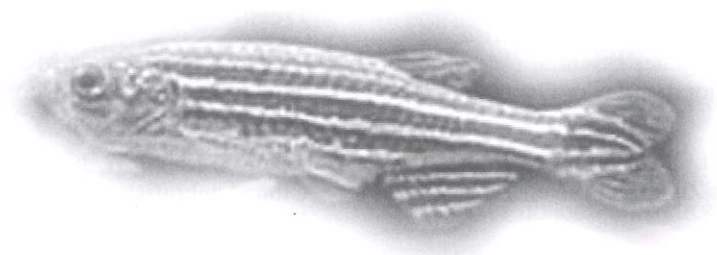
Se agradece la colaboración prestada al Dr. J. Coll que amablemente ha cedido las fotos para la publicación de este artículo. Este trabajo se realizó gracias a la financiación del proyecto INIA-MCYT ACU01-003

BIBLIOGRAFÍA

1. Walter RB: Aquaria fish models of human diseases. *Marine Biotechnology* 2001, 3.
2. Metscher BD, Ahlberg PE: Zebrafish in Context: Uses of a Laboratory Model in Comparative Studies, , . *Developmental Biology* 1999, 210:1-14.
3. Powers DA: Fish as model systems. *Science* 1989, 240:352-358.
4. Casebolt DB, Speare DJ, Horney BS: Care and use of fish as laboratory animals: current state of knowledge. *Lab Anim Sci* 1998, 48:124-136.
5. Dooley K, Zon LI: Zebrafish: a model system for the study of human disease. *Current Opinion in Genetics & Development* 2000, 10:252-256.
6. Barut BA, Zon LI: Realizing the potential of zebrafish as a model for human disease. *Physiol Genomics* 2000, 2:49-51.
7. Peterson RT, Link, B.A., Dowling, J.E and Schreiber, S.L.: Small molecule developmental scens reveal the logic and timing of vertebrate development. *PNAS* 2000, 97(24):12965-12969.
8. Amemiya CT, Zhong TP, Silverman GA, Fishman MC, Zon LI: Zebrafish YAC, BAC, and PAC genomic libraries. *Methods Cell Biol* 1999, 60:235-258.
9. Gollin G, Amsterdam, A., Sun, Z., Antonelly, A., Nissen, R.M. and Hopkins, N.: Insetional mutagénesis in zebrafish rapidly identifies genes essential for earli vertebrate development. *Nat. Genet.* 2002, 31(2):135-140.
10. Vogel G: DEVELOPMENT: Mutations Reveal Genes in Zebrafish. *Science* 2002, 296:1221-.
11. Grunwald DJaE, J.S.: Heardwaters of the zebrafis-emergence of a new model vertebrate. *Nat. Rev. Genet.* 2002, 2:717-724.
12. Talbot SWaH, N.: Zebrafis mutations and funcional analisis of the vertebrate genoma. *Genes & Development* 2000, 14:755-762.
13. Roush W: *Science* 2002, 272:1103.
14. Zon LI: Zebrafish: A New Model for Human Disease. *Genome Res.* 1999, 9:99-100.
15. Rocha A, Ruiz, S., Estepa, A.y Coll J.M.: *Biología Molecular de los peces: Interés y aplicaciones.* *Revista AquaTIC* 2001, 15:1-9.
16. Barbazuk WB, Korf I, Kadavi C, Heyen J, Tate S, Wun E, Bedell JA, McPherson JD, Johnson SL: The Syntenic Relationship of the Zebrafish and Human Genomes. *Genome Res.* 2000, 10:1351-1358.
17. Fishman MC: GENOMICS: Zebrafish--the Canonical Vertebrate. *Science* 2001, 294:1290-1291.
18. Willett CE, Zapata AG, Hopkins N, Steiner LA: Expression of zebrafish rag genes during early development identifies the thymus. *Dev Biol* 1997, 182:331-341.
19. Fishman MC: Zebrafish genetics: The enigma of arrival. *PNAS* 1999, 96:10554-10556.
20. Ju B, Xu Y, He J, Liao J, Yan T, Hew CL, Lam TJ, Gong Z: Faithful expression of green fluorescent protein (GFP) in transgenic zebrafish embryos under control of zebrafish gene promoters. *Dev Genet* 1999, 25:158-167.
21. Higashijima S, Okamoto H, Ueno N, Hotta Y, Eguchi G: High-frequency generation of transgenic zebrafish which reliably express GFP in whole muscles or the whole body by using promoters of zebrafish origin. *Dev Biol* 1997, 192:289-299.
22. Gong Z, Hew CL: Transgenic fish in Aquaculture and developmental biology. *Current Topics in Developmental Biology*.ed Pedersen,R.A.and Schatten,G.P.Academic Press 1995, 30:176-214.
23. Hackett.PB., Alvarez MC: The molecular genetic of transgenic fish. *Recent Advances in Marine Biotechnology* 2000, 4:77-144.
24. Lee KY, Huang H, Ju B, Yang Z, Lin S: Cloned zebrafish by nuclear transfer from long-term-cultured cells. *Nat Biotechnol* 2002, 20:795-799.
25. Moffat AS: Improving gene transfer into livestock. *Science* 1998, 282:1619-1620.

TABLA 1: Especies de peces utilizadas habitualmente en experimentación

NOMBRE COMUN	GENERO Y ESPECIE	UTILIZACIÓN
Goldfish Carpa común Pez Cebra	<i>Carassius auratus</i> <i>Cyprinus carpio</i> <i>Danio rerio</i>	Neurociencias Acuicultura Bilografía del Desarrollo Enfermedades genéticas Cáncer Toxicología de Aguas Peces Transgénicos Inmunología Comparada Fisiología Comparada.....
Anguila Killifish Channel catfish Trucha	<i>Electrophorus electricus</i> <i>Fundulus heteroclitis</i> <i>Ictalurus punctatus</i> <i>Oncorhynchus mykiss</i>	Neurociencias Endocrinología Acuicultura Toxicología de Aguas Peces Transgénicos Inmunología Comparada
Salmon	<i>Salmo salar and</i> <i>Oncorhynchus spp.</i>	Acuicultura Fisiología comparada Peces Transgénicos
Tilapia	<i>Tilapia spp. And</i> <i>Oreochomis spp.</i>	Acuicultura
Medaka	<i>Oryzias latipes</i>	Bilografía del Desarrollo Cáncer Peces Transgénicos
Raya Eléctrica	<i>Torpedo californica</i>	Neurociencias
Platyfish	<i>Xiphophorus maculatus</i>	Cáncer



LOS PECES EN LA EXPERIMENTACIÓN ANIMAL. PATOLOGÍA DE PECES

Silvia Crespo

Servei de Diagnòsis Patològic en peixos
Facultat de Veterinària. UAB

1. Panorama històric. Ejemplos de utilització de peces en experimentació animal
2. Los peces como sustitutos de los mamíferos. Especies de elección
3. Consideraciones sobre la utilización de peces
4. Pasos a seguir en caso de enfermedad
5. Patologías más frecuentes
6. Bibliografía

Las imágenes pueden consultarse en “Veterinaria virtual, Masters de postgrado” en la web de la Facultad de Veterinaria (<http://www.uab.es/fac-veterinaria>) a través de Internet Explorer (Windows98)

1. PANORAMA HISTÓRICO

La utilización de peces en la experimentación animal tiene sus inicios en el campo de la toxicología acuática. Los primeros tests de toxicidad aguda datan de 1863, pero es a partir de 1940 cuando se disparan los trabajos experimentales con peces, como resultado de la creciente utilización de pesticidas. A partir de los 60, además de establecerse las dosis letales en experimentos de toxicidad aguda, se utilizan los peces en ensayos crónicos con la finalidad de determinar los efectos genotóxicos, patológicos, comportamentales, u otros de determinados xenobióticos. Las disciplinas implicadas son muy diversas: fisiología, genética, reproducción, patología, nutrición, etc. A partir de 1970 y, sobre todo a partir de los 90, los peces son cada vez más utilizados como modelos experimentales, sobre todo en estudios de biomedicina y genómica. En la actualidad, sigue siendo importante su utilización como centinelas o bioindicadores del cambio ambiental.

A continuación se citan algunos ejemplos de peces utilizados como modelos experimentales y biomédicos:

- “Fish as biomedical research” (Klontz, 1971)
- “The fish heart as a model system for the study of myoglobin” (Driedzig, 1983)
- “Development of aquarium fish models for environmental carcinogenesis: tumor induction of seven species” (Hawkins et al., 1985)
- “Fish hepatocytes: a model metabolic system” (Moon et al., 1985)
- “The use of isolated fish opercular epithelium as a model tissue for studying intrinsic activities of loop diuretics” (Ericksson et al., 1985)
- “Animal model for ultraviolet radiation induced melanoma: platyfish-swordtail hybrid” (Setlow et al., 1989)
- “Fish as human disease models” (Contie, 1991)
- “Characterization of the puffer fish (Fugu) genome as a compact model vertebrate genome” (Brenner et al., 1993)
- “Transgenic fish: ideal models for basic research and biotechnological applications” (Chen et al., 1995)
- “The zebrafish as a model system in developmental, toxicological & transgenic research” (Lele & Krone, 1996)
- “A hemofilia model in zebrafish : analysis of hemostasis” (Jagaqdeeswaran & Liu, 1997)
- “Zebrafish as a model for studying neuronal circuits and behavior” (Fetcho & Liu, 1998)
- “Oxidative stress in toxicology: established mammalian and emerging piscine model systems” (Kelly et al., 1999)
- “Biomarkers of immunotoxicity in fish: from the lab to the ocean” (Zelikoff et al., 2000)
- “Establishment of medaka (*Oryzias latipes*) transgenic lines : a useful model to monitor germ cells in a live vertebrate” (Tanaka et al., 2001)
- “Mechanistic considerations in small fish carcinogenicity testing” (McHugh, 2001)

2. LOS PECES COMO SUSTITUTOS DE LOS MAMÍFEROS

Como consecuencia del elevado coste económico derivado de la utilización de roedores en tests de carcinogénesis y del progresivo aumento de productos potencialmente tóxicos a evaluar, en 1993 el Congreso de USA recomienda a los NIH que investiguen la utilización de modelos alternativos.

Uno de los modelos alternativos es el ensayo "in vitro". Los estudios "in vitro" son rápidos y económicos pero su validez es limitada ya que pueden dar falsos positivos o negativos y es imposible determinar el órgano diana del carcinógeno a evaluar. Otra opción es utilizar animales considerados "inferiores" en la escala filogenética. Esto tiene la ventaja añadida de solventar el problema que puede causar en algunos investigadores, y en la opinión pública en general, la utilización de mamíferos en la experimentación. A diferencia de los tests "in vitro", la utilización de peces implica que el test se realiza en animales enteros.

Sin embargo, aunque los ensayos con peces representen un ahorro de tiempo, de espacio, de personal de laboratorio y, consecuentemente, de dinero, no podrán sustituir completamente a los realizados con mamíferos al estar los dos grupos animales filogenéticamente muy separados y faltar una homología completa de todos los órganos (los peces no tienen pulmones ni nódulos linfáticos, por ejemplo). En la actualidad se recomienda hacer los primeros "screening" de tóxicos en peces para luego evaluar en roedores sólo aquellos productos que hayan resultado ser más tóxicos. También se recomienda la utilización de peces cuando se tengan que evaluar dosis muy bajas de carcinógenos (lo que obliga a aumentar considerablemente el tamaño de la muestra)

ESPECIES DE ELECCIÓN

Los pequeños peces de acuario de aguas dulces *Oryzias latipes* (el medaka), y *Brachydanio rerio* (el pez zebra), los dos ovíparos, son los más utilizados en estudios de carcinogénesis, desarrollo embrionario y biología del desarrollo. El medaka es el pez de laboratorio por excelencia. Es pequeño (1g, 3 cm; come 10 mg de pienso/día), presenta dimorfismo sexual, es maduro sexualmente a los 2-3 meses de edad y se reproduce continuamente (la hembra pone 20-30 hue-

vos cada día del año bajo condiciones de luz y temperatura controladas). Tolera un amplio rango de temperatura y condiciones ambientales (se adapta bien de 5 a 30°C, lo que no es frecuente en animales ectotérmicos) y se puede mantener a densidades relativamente altas en los acuarios de experimentación, lo que tampoco es muy frecuente en peces, que son muy sensibles al estrés.

El medaka es uno de los animales de laboratorio de elección para estudios de carcinogénesis ya que, a diferencia de la mayoría de roedores, los neoplasmas espontáneos son raros en esta especie. Por otro lado, es muy sensible a distintos compuestos que son cancerígenos en mamíferos y la inducción de tumores es muy rápida. Es la única especie animal en la que se ha podido inducir con carcinógenos químicos un tumor ocular (retinoblastoma), tumor intraocular más frecuente en niños. En la actualidad existen distintas líneas genéticas establecidas así como modelos transgénicos que se pueden obtener a costes relativamente bajos.

El pez zebra *Brachydanio rerio*, (Ciprinidae), el pez de acuario por excelencia, es también una especie muy utilizada en experimentación animal. Conjuntamente con la trucha de río es la especie recomendada en ensayos de toxicología acuática. Un mutante que tiene un defecto en la síntesis de la hemoglobina es el primer modelo animal para el estudio de la anemia sideroblástica congénita. Sin embargo el pez zebra requiere más espacio y atención que el medaka, sus alevines son más pequeños y requieren alimento especial durante un periodo de tiempo más largo, sus huevos son más susceptibles a las infecciones fúngicas y los adultos son menos susceptibles a la inducción de tumores.

El fugu (puffer fish o pez balón), a parte de ser considerado un manjar en Japón y de ser conocido por almacenar en sus vísceras una de las moléculas más tóxicas, la tetratoxina, (bloquea los canales de sodio y, consecuentemente, la transmisión del impulso nervioso) es uno de los animales de laboratorio más utilizados en proyectos de genómica.

El genoma del fugu es 8 veces inferior al humano (el del medaka es la cuarta parte y el del pez zebra la mitad) pero tiene casi los mismos genes básicos. En comparación con otros vertebrados

tiene una alta proporción de genes y una baja proporción de “junk DNA”, lo que facilita la localización y estudio de los genes.

Otros peces de acuario utilizados como modelos biomédicos son los vivíparos de la familia Poeciliidae (*Poecilia reticulata*, guppy y *Xiphophorus sp.*, platy y cola de espada). Se pueden obtener fácilmente híbridos de platys y colas de espada que producen melanomas heredables que son buenos modelos para el estudio de distintos tipos de cáncer de piel.

Las especies de gran tamaño (salmónidos, ictalúridos) presentan ciertas ventajas como animales de experimentación respecto a los pequeños peces de acuario. Son más fáciles de manejar cuando interesa utilizar procedimientos no letales en la experimentación (toma de muestras de sangre, canulación, cirugía, etc). Por otro lado, y debido a que son especies comerciales destinadas al consumo humano, de interés en acuicultura y pesquerías, la documentación que existe sobre ellas es más amplia. Sin embargo requieren más espacio y más agua, lo que implica disponer de grandes instalaciones, que la mayoría de centros o laboratorios no pueden costear. De todos modos, la trucha arco iris, conjuntamente con el pez zebra, el crustáceo *Daphnia pulex* (la pulga de agua) y el alga *Chlorella*, son las especies a utilizar en los tests de toxicidad aguda (Norma 203-OECD, 1984, 1992)

3. CONSIDERACIONES SOBRE LA UTILIZACIÓN DE PECES

El problema del agua.

Aunque parezca una perogrullada no debemos olvidar que los peces son acuáticos y que cualquier cambio en las condiciones del agua es causa de estrés. Las enfermedades de los peces son multifactoriales, con una componente ambiental muy importante, lo que implica que cualquier diagnóstico patológico debe tener en cuenta la composición del agua; cualquier diseño experimental debe garantizar el mantenimiento de su calidad. Los principales parámetros físico-químicos que se deben controlar a lo largo de toda la experimentación, ya que afectan al estado fisiológico del pez y pueden falsear el experimento, son: oxígeno disuelto, pH, temperatura, alcalinidad, sólidos en suspensión, anhídrido carbónico, sobresaturación de gases, amoníaco y nitrito. En la Tabla adjunta

se reseñan los rangos de tolerancia de diversos parámetros para distintas especies.

Otra de las consecuencias del hecho de ser acuáticos es que los peces se encuentran en diálisis constante. En agua dulce, una lesión de la piel (que actúa como barrera osmótica), que no revestiría ninguna importancia en agua de mar, puede causar necrosis de la musculatura esquelética al producirse una entrada masiva de agua y resultar en la muerte del animal. Debe pues controlarse las infecciones bacterianas, parasitarias y fúngicas de la piel así como evitar el canibalismo.

La ectotermia.

La temperatura de los peces sigue las variaciones del medio acuático. La ectotermia es ventajosa desde el punto de vista energético ya que no existe consumo de energía para controlar la temperatura corporal; sin embargo la temperatura puede convertirse en un factor limitante. A temperaturas subóptimas las reacciones enzimáticas son más lentas y los peces están inmunodeprimidos, siendo más susceptibles a cualquier infección, sobre todo a las infecciones víricas. A temperaturas superiores a la óptima, el metabolismo es más elevado, el consumo de oxígeno es superior y puede haber problemas de anoxia e intoxicación por amoníaco.

El estrés.

Cualquier animal estresado es más susceptible a la enfermedad. Pero en los peces, la interrelación entre sistema neuroendocrino y sistema inmunitario es quizás más estrecha que en mamíferos ya que utilizan un solo órgano (el riñón anterior) como lugar principal de captación de antígenos circulantes, de síntesis de anticuerpos, de síntesis de cortisol y de catecolaminas, y el riñón es por otro lado el órgano linfohemopoyético por excelencia.

Son muchos los factores generadores de estrés del medio: manipulación inadecuada, transporte, hacinamiento, confrontación social, cambios bruscos de temperatura, de salinidad o de otros parámetros. Todos ellos estimulan el sistema nervioso central provocando la liberación de factores, que, a su vez, estimularán la pituitaria para que libere ACTH y otras hormonas (a-MSH y endorfinas) que conducirán a la liberación de cortisol por parte de la interrenal, y de catecolaminas por parte del tejido cromafín. Parece ser que es el cortisol, hormona principal de la inte-

renal en peces, el principal mediador en la relación entre sistema endocrino y sistema inmune. Está claramente demostrado en peces que el estrés produce un aumento del cortisol en plasma y que niveles elevados de cortisol producen, por un lado, apoptosis en los linfocitos y, por otro, influyen sobre la distribución de los leucocitos en el organismo.

Al realizar un transporte de peces, y para evitar el estrés, es conveniente sedarlos.

Los anestésicos más utilizados son:

MS222 (metanosulfonato de tricaina): soluble en agua; es el más caro pero uno de los más utilizados
Dosis: 5-30ppm (S), 40-100ppm (A)

Benzocaina: ampliamente utilizado; más económico pero es insoluble en agua y debe realizarse una disolución previa en alcohol. Dosis: 10-30ppm (S), 40-100ppm (A).

Otros: quinaldina, 2-fenoxi etanol, aceite de clavo (eugenol), dióxido de carbono.

S= dosis sedante para transporte; A= dosis para una anestesia completa.

4. PASOS A SEGUIR EN CASO DE ENFERMEDAD MUESTRA DE AGUA MEDIR

MUESTRA DE AGUA

PECES
(siempre con buena aireación)

MUESTRA DE AGUA
 Oxígeno
 Temperatura
 Amoniaco
 Nitrito
 pH
 Dureza
 Salinidad

EXAMINAR
 Anormalidades en Comportamiento y Fisiología
ANESTESIAR el pez, hacer frotis de sangre y heces y biopsia de branquia y piel
IDENTIFICAR
 Ectoparásitos (protozoos y Metazoos)
 Bacterias en piel y branquia
 Linfocistis, Epiteliocistis, hemopatias

EUTANASIA

EUTANASIA
SACRIFICAR el pez y realizar Siembras de **RIÑÓN** para identificar **INFECCIONES BACTERIANAS SISTÉMICAS**

NECROPSIA

IDENTIFICAR
 Endoparásitos, infecciones Fúngicas

¿EXPLICAN LOS PROBLEMAS IDENTIFICADOS DE MANERA CONVINCENTE LA MORTALIDAD Y/O MORBILIDAD?

SI

NO

NECROPSIA
 Infecciones víricas sistémicas
 Deficiencias nutricionales
 Compuestos tóxicos
 Algas tóxicas
 Enfermedades idiopáticas

TRATAMIENTO: MEDICACIÓN- MANEJO- PROFILAXIS

5. PATOLOGÍAS MÁS FRECUENTES

5.1. Patología de branquia y piel.

La branquia está en íntimo contacto con el medio ambiente, es vía de entrada de patógenos y muy sensible a cualquier cambio de las condiciones del agua. Una sobresaturación de gases conduce a embolias gaseosas ("gas bubble disease"). Un aumento de la concentración de amoníaco así como los xenobióticos en disolución (metales pesados, pesticidas, etc) pueden causar descamación del epitelio de las laminillas respiratorias, telangiectasia branquial o fusión lamelar. Todas estas lesiones se traducen en disfunciones respiratorias y osmoreguladoras severas. Sin embargo, alteraciones similares se han visto asociadas a técnicas de eutanasia traumáticas (aparición de telangiectasia) y procesos de fijación deficientes (descamación epitelial)

5.1.1. Ectoparasitosis.

La enfermedad del **punto blanco** o "ICH" es causada por un protozoo, *Ichthyophthirius multifiliis*, de ciliación holotrica (bandas de cilios uniformemente distribuidas por toda la célula). La mayoría de peces de agua dulce son susceptibles a infecciones de branquia y piel por este protozoo. Los puntos blancos, visibles a simple vista, corresponden al trofote, de 1mm de diámetro, que se sitúa por debajo del epitelio branquial y de la epidermis de la piel, por encima de la lámina basal. Cuando madura, se desprende, se enquistas en el fondo del tanque y da lugar a multitud de pequeños tomitas (forma libre o infectiva).

La **Costiasis** es causada por un protozoo flagelado piriforme, *Ichthyobodo necator* (antes *Costia necator*). Los peces parasitados aparecen recubiertos de una capa blanquecina/ azulada de mucus y presentan síntomas de asfíxia. El protozoo se fija a la superficie de piel y branquia produciendo irritación, hiperplasia branquial y aumento de la secreción mucosa.

Trichodina sp. es un ciliado peritrico (con coronas de cilios) que presenta un anillo de dentículos característico que ayuda a la identificación taxonómica del protozoo. Es un parásito oportunista que sólo causa problemas si los peces están estresados o afectados por otra patología y/o la calidad del agua no es la adecuada. Las infecciones severas de piel y branquia producen irritación, hiperplasia branquial y disfunciones respiratorias.

Los **monogénidos** son platihelminthos ectoparásitos que se fijan a la piel y branquia del pez mediante el haptor, situado en la zona posterior del cuerpo del animal. Los girodactiloideos (vivíparos) y los dactilogiroideos (ovíparos) son los que causan mayores problemas en agua dulce. En infecciones severas, la dermis aparece edematosa y la hiperplasia branquial puede llevar a la fusión de las laminillas respiratorias.

5.1.2. Infecciones por bacterias filamentosas

Las bacterias filamentosas (o bacterias desli-zantes), anteriormente conocidas con el nombre de mixobacterias (¡su taxonomía está en constante revisión!), causan infecciones severas de piel (*Flavobacterium columnare*) y branquia (*Flavobacterium branchiopilum*). Las largas bacterias filamentosas (de hasta 15µ de longitud) se disponen formando columnas sobre la superficie del animal; la piel puede presentarse totalmente erosionada, propiciándose las infecciones secundarias por hongos (*Saprolegnia sp.*) y la entrada masiva de agua (únicamente en peces de agua dulce) que conduce a la necrosis de la musculatura esquelética. La mortalidad va asociada a un incremento de la temperatura y a aguas de mala calidad. La infección branquial (BGD=bacterial gill disease) causa hiperplasia con fusión de las laminillas respiratorias.

5.2. Bacteremias sistémicas.

La mayoría de enfermedades bacterianas en peces son septicemias hemorrágicas causadas por bacterias Gram negativas; los brotes de mortalidad están generalmente asociados a un aumento de la temperatura del agua.

Las enfermedades que revisten mayor importancia en salmónidos son: ERM (enteric red mouth), yersiniosis o enfermedad de la boca roja, causada por *Yersinia ruckeri*; Furunculosis, causada por *Aeromonas salmonicida*; Vibriosis (en agua salada o salobre) causada por *Vibrio sp.*

Entre los patógenos Gram positivos cabe destacar: *Renibacterium salmoninarum* (agente causante del BKD o "bacterial kidney disease", enfermedad bacteriana del riñón) y los cocos (*Streptococcus*, *Enterococcus*, etc) causantes de septicemias hemorrágicas similares a las producidas por las bacterias Gram positivas.

5.3. Infecciones víricas.

Los rhabdovirus (IHNV, virus de la necrosis hematopoyética infecciosa ; VHSV, virus de la septicemia hemorrágica viral y SVCV, virus de la viremia primaveral de la carpa) infectan el tejido hematopoyético del riñón y el bazo y causan importantes hemorragias internas.

El IPNV (virus de la necrosis pancreática infecciosa) es un birnavirus que causa necrosis del páncreas exocrino, de la mucosa intestinal y del tejido hematopoyético de bazo y riñón.

6. BIBLIOGRAFÍA

Libros recomendados:

Noga, E.J., 1996. *Fish Disease. Diagnosis and treatment*. Iowa State Univ Press. Ames

Ostrander, G.K., 2000. *The laboratory Fish*. Academic Press, San Diego

Ross, L.G., Ross, B., 1999. *Anaesthetic & sedative techniques for aquatic animals*. Blackwell Sci, Oxford

Ejemplos de la utilización de peces en experimentación animal:

Brenner, S., Elgar, G., Sandford, R., Macrae, A., Venkatesh, B & Aparicio, S., 1993. Characterization of the puffer fish (Fugu) genome as a compact model vertebrate genome. *Nature* 366, 265-268

Chen, T. T., Lu, J-K., Shamblott, M.J., Cheng, C.M., Lin, C-M., Burns, J.C., Reimschuessel, R., Chatakondi, N & Dunham, R.A., 1995. Transgenic fish: ideal models for for basic research and biotechnological applications. *Zoolog. Studies* 34, 215-234

Contie, V. L., 1991. Fish as human disease models. *Nat. Cent. Res. Resourc. Rep.* 15, 1-4

Driedzig, W.R., 1983. The fish heart as a model system for the study of myoglobin. *Comp. Biochem. Physiol.*A 76, 487-493

Ericksson, O., Mayer-Gostan, N. & Wistrand, P.J., 1985. The use of isolated fish opercular epithelium as a model tissue for studying intrinsic activities of loop diuretics. *Acta Physiol. Scand.* 125, 55-56

Fetcho, J.R. & Liu, K.S., 1998. Zebrafish as a model system for studying neuronal circuits and behavior. *Ann NY Acad. Sci.*, 860, 333-345

Hawkins, W.E., Overstreet, R.M., Fournie, J.W. & Walker, W.W., 1985. Development of aquarium fish models for environmental carcinogenesis: tumor induction of seven species. *J. Appl. Toxicol.* 5, 2661-264

Jagaqdeeswaran, P. & Liu, Y.C., 1997. A hemophilia model in zebrafish : analysis of hemostasis. *Blood Cells Mol. Dis.* 23, 52-57

Kelly, K.A., Havrilla, C.M., Brady, T. C., Abramo, K.H., Levin, E.D., 1999. Oxidative stress in toxicology: established mammalian and emerging piscine model systems. *Environ. Hlth Perspec.* 106, 375-384

Lele, Z. & Krone, P.H., 1996. The zebrafish as a model system in developmental, toxicological & transgenic research. *Biotechnol. Adv.* 14, 57-72

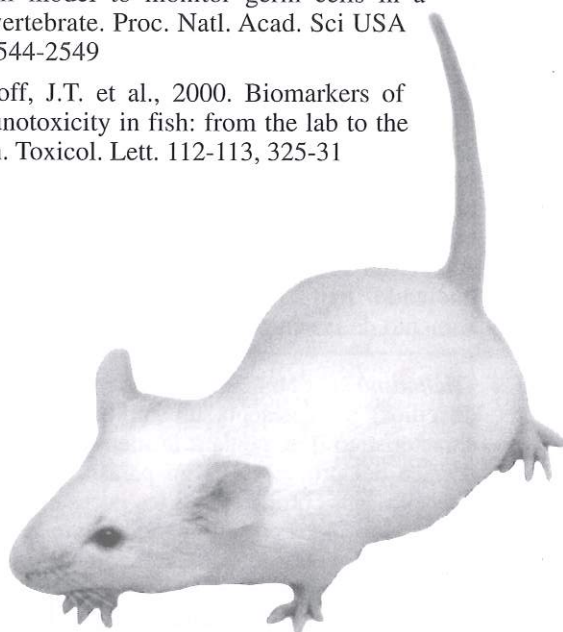
McHugh, J., 2001. Mechanistic considerations in small fish carcinogenicity testing. *ILAR Journal* 42274-284

Moon, T.W., Walsch, P.J., Mommsen, T.P., 1985. Fish hepatocytes: a model metabolic system. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 42, 1772-1782

Setlow, R.B. et al., 1989. Animal model for ultraviolet radiation induced melanoma: platyfish-swordtail hybrid. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 86, 8922-8926

Tanaka, M. et al., 2001. Establishment of medaka (*Oryzias latipes*) transgenic lines : a usefull model to monitor germ cells in a live vertebrate. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 98, 2544-2549

Zelikoff, J.T. et al., 2000. Biomarkers of immunotoxicity in fish: from the lab to the ocean. *Toxicol. Lett.* 112-113, 325-31



3 NOTICIAS *de interés*

EL OTRO CONGRESO DE AALAS

*Cecilia Carbone. Cátedra de Animales de Laboratorio y Bioterio.
Fac. Cs. Veterinarias, U.N.L.P. 60 y 118 CC 296 (1900) La Plata, Rep. Argentina*
Liliana Pazos. Laboratorio de Ensayos Biológicos, Universidad de Costa Rica

Estimados colegas: trataremos a través de estas líneas, informarles sobre lo acontecido durante el 53º Congreso Nacional de AALAS, que tuvo lugar en la ciudad de San Antonio, Texas entre el 27 y el 31 de octubre pasado.

Esta ha sido la primera vez que la Asociación Americana para las Ciencias del Animal de Laboratorio (AALAS) enfoca su interés en una región del mundo, en este caso Latinoamérica, por lo que se denominó especialmente "The Meeting of the Americas" (El Congreso de las Américas)

De los 3364 inscritos, 54 fueron Latinoamericanos: Argentina, Brasil, Colombia, Costa Rica, Chile, México, Perú y Venezuela estuvieron muy bien representados. A todo esto se suma la participación de nuestros colegas españoles: Patri Vergara, Josep Tur Marí y Manuel Moreno entre otros, con los que la comunidad latinoamericana compartió no solo el programa científico sino también los momentos de esparcimiento.

El programa incluyó un curso en español de un día y medio, impartido por latinoamericanos residentes en los Estados Unidos y, de acuerdo con la estructura del evento, se continuó con seminarios, ponencias, clases magistrales, posters y dos visitas dirigidas a sendas instalaciones de animales, el último día.

Los temas que se desarrollaron en los seminarios fueron : Manejo y Alojamiento de Animales de Laboratorio, Enfermedades Infecciosas de Roedores de Laboratorio y Controles Microbiológicos, Monitoreo Genético, Modelos Animales, Diseño y Construcción de Animalarios, Comparación de Programas Educativos en Latinoamérica y Norteamérica y Comités de Ética, Reglamentaciones y Legislación en Latinoamérica y Norteamérica, culminando este último con una

discusión muy enriquecedora sobre la situación de cada país respecto a estos temas. Entre las clases magistrales fue de gran interés la dictada por el Dr. Molinolo, investigador en el Cancer Research Institute de la Universidad de Texas sobre El Ratón como Modelo Genéticamente Modificado para el Estudio del Cáncer. Con respecto a las ponencias, los asistentes tuvieron la oportunidad de informarse acerca de las investigaciones que se desarrollan en los diferentes países latinoamericanos .

Teniendo en cuenta la difícil situación financiera en nuestra región, la participación de 54 latinoamericanos cubrió nuestras expectativas. Además de los 49 posters que se presentaron, las reuniones de la Federación Sudamericana de Sociedades de Animales de Laboratorio (FESSACAL) y la Asociación Centroamericana del Caribe y México de Animales de Laboratorio (ACCMAL), junto con los miembros de la División Interamericana de ICLAS hizo de esta una oportunidad única para el planteamiento de problemas comunes, informar sobre la situación de esta ciencia en los diferentes países, hacer propuestas educativas y, sobre todo promover la camaradería y la comunicación entre todos los participantes.

Con este bagaje, positivo y muy satisfactorio es con el que todos nos fuimos de regreso a nuestros países, con la promesa y el proyecto de mantener el compromiso de continuar trabajando todos juntos para el desarrollo de la ciencia de los animales de laboratorio.

4 LIBROS Y CONVOCATORIAS

LIBROS • publicaciones

Sección editada por *Luís Muñoz*

■ TEXTBOOK OF VETERINARY ANATOMY

Dyce, K.M.; Sack, W. O.; Wensing, C.J.G.
Editorial: SAUNDERS, W.B
2002, 840 Págs., ISBN: 0-7216-8966-3,
3ª Edic., Cartoné
109,13 Euros (IVA incluido), 18.158 Ptas.

INDICE: Some basic facts and concepts. The locomotor apparatus. The Digestive apparatus. The respiratory apparatus. The urogenital apparatus. The endocrine glands. The cardiovascular system. The nervous system. The sense organs. The common integument. The head and ventral neck of the carnivores. The abdomen of the carnivores. The pelvis and reproductive organs of the carnivores. Etc.

■ LABORATORY PROCEDURES FOR VETERINARY TECHNICIANS

Hendrix, Charles M.
Editorial: MOSBY, C.V. COMPANY (Usa)
2002, 559 Págs., ISBN: 0-323-01396-1,
4ª Edic., Rústica
50,80 Euros (IVA incluido), 8.452 Ptas.

■ FUNDAMENTALS OF VETERINARY CLINICAL PATHOLOGY

Stockham, Steven L.
Scott, Michael A.
Editorial: IOWA STATE UNIVERSITY PRESS
2002, 610 Págs., ISBN: 0-8138-2561-X,
Cartoné
123,80 Euros (IVA incluido), 20.599 Ptas.

INDICE: Basic hematologic assays. Leukocytes. Erythrocytes. Hemostasis. Bone marrow and lymph nodes. Proteins. Urinary system. Monovalent electrolytes and osmolality. Blood gases, blood pH, and strong ion difference. Calcium, phosphorus, magnesium, and their regulatory hormones. Enzymes. Liver function. Glucose and related regulatory hormones. Exocrine pancreas and intestine. Lipids. Etc.

■ CÓDIGO ZOOSANITARIO INTERNACIONAL

Editorial: OFFICE INTERNATIONAL DES EPI-
2002, 530 Págs., ISBN: 92-9044-558-0,
11ª Edic.,
80,08 Euros (IVA incluido), 13.324 Ptas.

El objetivo del Código Zoosanitario Internacional es garantizar la seguridad sanitaria del comercio internacional de animales (mamíferos, aves y abejas) y productos de origen animal gracias a una definición detallada de las garantías sanitarias que conviene exigir, en el ámbito de ese comercio, para evitar la transmisión de agentes patógenos a los animales o a las personas.

■ **MANUAL DE MEDICINA VETERINARIA**

Blood, D.C.;
 EDITORIAL: *McGRAW-HILL/*
INTERAMERICANA DE
 2002, 864 Págs., ISBN: 84-486-0448-2,
 9ª Edic., Rústica
 52,00 Euros (IVA incluido), 8.652 Ptas.

INDICE: PARTE PRIMERA MEDICINA GENERAL. Examen clínico y establecimiento del diagnóstico. Estados sistémicos generales. Enfermedades del recién nacido. Tratamiento antimicrobiano práctico. Enfermedades del aparato digestivo: parte I. Enfermedades del aparato Digestivo, parte II. Enfermedades del hígado y del páncreas. Trastornos del sistema cardiovascular. Enfermedades de la sangre.

■ **INTRODUCTION TO VETERINARY PATHOLOGY (CD-ROM)**

Cheville, Norman F.
 2001, Software, ISBN: 0-8138-2488-5
 EDITORIAL: *IOWA STATE UNIVERSITY*
PRESS
 72,76 Euros (IVA incluido), 12.106 Ptas.

Abnormalities of cells and tissues, caused by injury, in non-human vertebrate animal species are explained in this textbook. It provides a framework of basic principles of general pathology and adds to this knowledge of molecular pathology in a clear manner for students. This text contains instruction in the interaction of disease processes.

■ **LOS ANIMALES TAMBIEN LLORAN**

Mérida, Raul; Sentana, Pablo
 EDITORIAL: *ATELES EDITORES, S.L.*
 2002, 148 Págs., ISBN: 84-931067-9-8, Rústica
 20,00 Euros (IVA incluido), 3.328 Ptas.

Hoy en día cada vez es mayor el número de hogares españoles en los que las personas comparten su vida con un animal doméstico. Esto podría indicar que ha tenido lugar un cambio favorable en las actitudes de la sociedad hacia la forma de ver y tratar a los animales de compañía. Sin embargo, no hay nada más lejos de la verdad. El abandono y maltrato de animales representan problemas cada vez más graves.

■ **HANDBOOK OF EXPERIMENT ANIMALS. LAB PRIMATE**

Baskin Academic Press: 2002 Stock Title
 ISBN: 0120802619
 Sterling : 125.00 USD: 187.5

■ **SAUNDERS HANDBOOK OF VETERINARY DRUGS**

Papich, Mark G.: 2002 Stock Title
 ISBN: 0721673872
 Sterling: 33.99 USD: 50.99



■ **INTRODUCCIÓN A LA EXPERIMENTACIÓN CON ANIMALES**

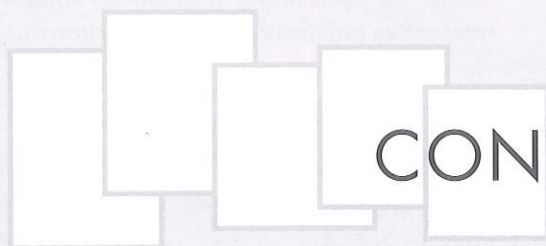
Editores, José Rodríguez Martínez, Ma. Dolores Hernández Lorente, Jorge de Costa Ruiz. 1ª. ed. Universidad de Murcia, Servicio de Publicaciones, 2001, ISBN: 8483712318

■ **THE LABORATORY FISH**

Edited by Gary K. Ostrander, Johns Hopkins University, Baltimore, Maryland, U.S.A. August 2000, 500 pages, Hardback & Online \$199.95/£125 ISBN: 0-12-529650-9

■ **DISEASES OF FISH**

Paul R. Bowser, PhD,
<http://bioresearch.ac.uk/subject-listing/OY50.html>



CONVOCATORIAS

■ **VIII BRAZILIAN CONGRESS ON LABORATORY ANIMAL SCIENCE
IV INTERNATIONAL CONGRESS ON LABORATORY ANIMALS SCIENCE
III MEETING OF MERCOSUL SCIENTISTS**

November, 19 21 , 2002
Centro de Cultura e Convenções
Goiânia-Gois-Brazil

■ **THE CANADIAN AQUACULTURE INSTITUTE (curso sobre cuidados de animales acuáticos)**

<http://www.upei.ca/fishcarecourse/>

■ **TOXICOLOGIC PATHOLOGY TRAINING COURSE (TPTC) II**

November 21 - 23, 2002
Institute of Pathology, School of Veterinary Medicine, Hannover, Germany
Registrations should be sent to:
Prof. Dr. Wolfgang Drommer
Institute of Pathology.
School of Veterinary Medicine
Buenteweg 17, D-30559 Hannover, Germany
Phone: + 49-511-953-8600 or -8650
Fax: + 49-511-953-8675
e-mail: wolfgang.drommer@tiho-hannover.de



WEB Y OTROS

■ PUBLICACIONES DE AALAS

<http://www.aalas.org>

- Comparative Medicine (journal)
- Contemporary Topics in Laboratory Animal Science (journal)
- Tech Talk (newsletter)

■ PUBLICACIONES DE LABORATORY ANIMALS, LTD (UK)

<http://www.lal.org.uk/>

- Laboratory Animals (journal)

■ PUBLICACIONES DE NATURE AMERICA, INC.

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

- Lab Animal (magazine)

■ PUBLICACIONES DE VICON PUBLISHING, INC.

<http://www.animallab.com>

- Animal Lab News (tabloid, first issue scheduled for Sept. 2002)

MONOGRAFÍAS DEL ILAR:

■ ILAR JOURNAL VOL 43; N° 4: 2002"EXPERIMENTAL DESIGN AND STATISTICS IN BIOMEDICAL RESEARCH".

■ ILAR JOURNAL VOL 37(4)

Richard C. Van Sluyters

GUIDELINES FOR THE CARE AND USE OF FISH IN RESEARCH

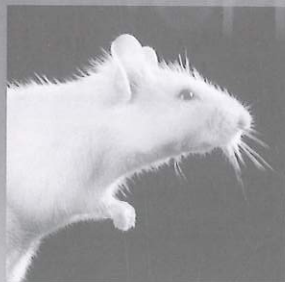
Louis J. DeTolla, S. Srinivas, Brent R. Whitaker, Christopher Andrews, Bruce Hecker, Andrew S. Kane, and Renate Reimschuessel

ILAR JOURNAL VOLUME 42(4) FISH MODELS IN BIOMEDICAL RESEARCH

GUIDELINES FOR REPORTING THE RESULTS OF EXPERIMENTS ON FISH-TROND BRATTELID & ADRIAN J. SMITH

<http://www.lal.org.uk/pdf.htm>

CERTIFICACIÓN Y EUROPEIZACIÓN! CERTIFIED AND EUROPEAN! CERTIFIEZ VUESTRO NEGOCIO! EUROPAISCH UND ZERTIFIZIERT! EUROPEAN CERTIFICATION!



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



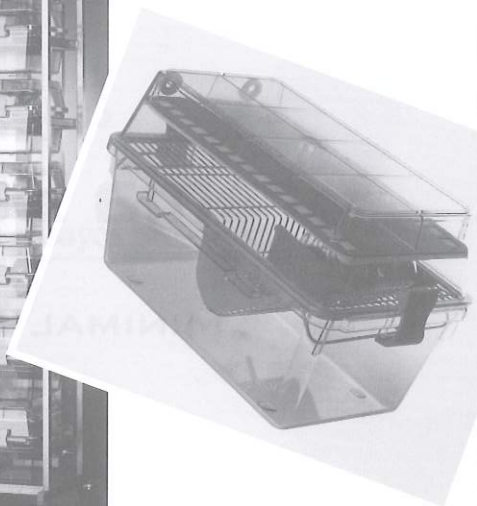
Representante en España:
JANVIER ESPAÑA, S.L.
Tembleque, 56. 28024 MADRID.
Telf.: 91 711 25 53. Fax: 91 518 12 60



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

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.



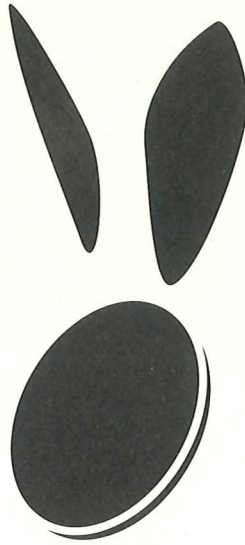
*También suministramos jaulas y equipos para
toda clase de investigación animal.
Por favor pregúntenos para más información.*

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

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

e-mail: sanbernardo@masbytes.es



Animales de laboratorio



Servicios transgénicos



Control del estado sanitario y genético



Servicios ensayos pre-clinicos



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.

